АЗӘРБАЈЧАН ССР ЕЛМЛӘР АКАДЕМИЈАСЫНЫН ХӘБӘРЛӘРИ
Биолокија вә тибб елмләри серијасы № 2.

ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК АЗЕРБАЙДЖАНСКОЙ ССР
Серия биологических и медицинских наук № 2.

Т. М. АХУНДОВ

БИОЛОГИЯ ГРИБА, ВЫЗЫВАЮЩЕГО ЦИЛИНДРОСПОРОЗ КАШТАНА

Проведенными нами в течение ряда лет исследованиями установлено, что в условиях Азербайджанской ССР на каштане встречаются многочисленные грибные и бактериальные заболевания, причиняющие большой вред этой культуре. Среди заболеваний наиболее распространенным и вредоносным является цилиндроспороз, или бурая пятнистость каштана. Биоэкология гриба в условиях республики до настоящего времени не изучена и мероприятия по борьбе с ним не разработаны. Наша работа —первая попытка в этом направлении.

Возбудителем заболевания является *Cylindrosporium castanicola* (Desm.) Berl. Syn. *Septoria castanicola* Desm., *S. castanea* Lev., *Phleospora castanicola* Desm. Он давно известен в Западной Европе, где местами наносил большой ущерб насаждениям каштана.

Первоначально возбудитель цилиндроспороза каштана был обнаружен во Франции (1847 г.) и описан Десмазером (Desmasier) под названием *Septoria castanicola*. Позже обнаружен в Великобритании, Бельгии, Германии, Австрии, Венгрии, Португалии и Италии. В 1893 г. он вызвал массовую гибель саженцев каштана во многих странах Европы, чем привлек к себе внимание микологов и фитопатологов.

В 1896 г., по наблюдениям Берлезе (Berlese [6]), это заболевание было основной причиной неурожая каштанов во многих областях средней Италии. Подробно изучив морфологию возбудителя болезни и некоторые его биологические свойства, Берлезе пришел к выводу, что паразит, вызывающий пятнистость листьев каштана во многих странах Европы, не имеет ничего общего с родом *Septoria*, и перенес его из группы пикнидальных грибов к роду *Cylindrosporium*.

Данные Цибони (Ciboni [9]) подтверждают, что в 1893 г. *Cylindrosporium castanicola* причинял урожаю каштанов в Италии большой урон, а в 1896 г. свел его почти на нет.

Бриози (Briosi [7]) в работе о паразитных несовершенных грибах культурных растениях описывает этот гриб под названием *Septoria castanicola*. На представленном им рисунке, изображающем плодоношение возбудителя в разрезе, показаны типичные для септориоза пикниды с темноокрашенной стенкой.

Позже А. А. Еленкин [3], тщательно исследовав пораженные возбудителем листья, собранные Бриози, пришед к заключению, что пло-

довое ложе гриба сильно вогнуто и края настолько далеко отстоят друг от друга, что напоминают плодовое тело меланкониальных грибов. Таким образом, А. А. Еленкин также пришел к выводу, что исследованные им образцы нельзя отнести к роду *Septoria*. По мнению А. А. Еленкина, Берлезе правильно отнес этот вид гриба к роду *Cylindrosporium*. А. А. Еленкин сообщает, что в 1912 г. в Гагре, по дороге к верхнему водопаду р. Жоэквари, он обнаружил большое количество листьев каштана, пораженных *Cyl. cactanicola*.

В Азербайджане этот гриб впервые был обнаружен Г. Р. Ибрагимовым 22 августа 1949 г. в Куткашенском р-не в окрестностях сел. Мыхлыковах. Позже мы нашли его вблизи станции Цнори (Грузинская ССР). Дальнейшие исследования, проведенные Г. Р. Ибрагимовым и нами в 1952—1955 гг. показали, что это заболевание в условиях Нуха-Закатальской зоны широко распространено и причиняет насаждениям каштана большой вред.

В 1951— 1954 гг. деревья каштана в Куткашенском и других районах этой зоны были настолько поражены цилиндроспорозом, что издали имели опаленный вид и на 15—20 дней раньше срока сбросили листья. Молодые 1—10-летние насаждения каштана в питомниках лесхозов Куткашенского, Закатальского и Белоканского р-нов в середине вегетации (август) из-за сильного поражения болезнью были полностью оголены. Многие деревья образовывали листья вновь, а некоторые, особенно 2—3-летние, погибали. Аналогичное явление отмечено в Варташенском и Куткашенском р-нах в 1958 г.

Все это обусловило необходимость изучения биоэкологии *Cyl. castanicola* в условиях Азербайджана с тем, чтобы приступить к разработке мероприятий по борьбе с ним.

Возбудитель цилиндроспороза каштана образует на листьях многочисленные маленькие угловатые или округлые, рассеянные по всей поверхности темно-бурые пятна, окруженные желтовато -или светло-коричневой каймой. Пятна, сливаясь, иногда целиком покрывают пластинку листа. На нижней стороне листьев пятна грязно-коричневые с бледным центром 0,5—1 *мм* в диаметре. Ложа гриба возникают только на нижней стороне листа, в середине пятна. Они одиночные вначале покрыты эпидермисом, затем выступающие.

Н. И. Василевский и Б. П. Каракулин [2] указывают, что ложа, возбудителя появляются на пораженных участках листа группами. По нашим же наблюдениям, в большинстве случаев ложа на пятнах немногочисленные, часто по одному на каждом пятне. А. А. Еленкин [3], исследовав многие эксикаты и образцы, установил, что ложа гриба состоят из тонкого бесцветного сплетения гиф, слегка вогнутого, от которого отходят очень маленькие конидионосцы, несущие длинные конидии.

По исследованиям Н. И. Васильевского [2], базальный слой ложа тонкий, состоит из бесцветной прозоплектенхимы, на разрезе неровный, более или менее плоский, иногда глубоко погруженный в ткань листа.

Конидии цилиндрические, на обоих концах почти закругленные, часто с одного конца слегка утончающиеся или тупо приостренные, прямые или согнутые.

Cyl. castanicola является конидиальной стадией сумчатого гриба *Mycosphaerella maculiformis* (Pers.) Schroet. Перитеции его возникают только в конце вегетации на опавших листьях каштана. Они шаровидные, маленькие, черные, многочисленные, одиночные или часто группами, погруженные, выступающие только своим отверстием. Сумки цилиндрические или булавовидные, многочисленные, без пара-

физ. Споры в сумке расположены в два ряда, двухклеточные, бесцветные, большей частью булавовидные, иногда яйцевидные.

Н. И. Васильевский и Б. П. Каракулин [2] пишут, что „в конце лета и осенью на пятнах, вызванных *Cyl. castanicola*, развиваются, обычно уже на опавших листьях, мелкие черные пикниды с цилиндрическими бесцветными одноклеточными конидиями, 4—6×р. Согласно Прилье (Malad. plant. agric., II, 1897, p. 275—280), их образование можно наблюдать в базальном слое *Cyl. castanicola*. Этот пикнидиальный гриб, описанный под наименованием *Phyllosticta maculiformis* Sacc., считается также одной из стадий развития *Cyl. castanicola*." Такая связь подтверждена нами в лабораторных условиях. В течение ряда лет при культивировании *Cyl. castanicola* мы были свидетелями образования данной стадии.

Перезимовавшие перитеции гриба *Mycosph. maculiformis* весной созревают. Находящиеся в них аскоспоры при наличии влаги и оптимальной температуры набухают, развивающееся внутреннее давление выталкивает наружу из сумок споры, которые разносятся ветром, насекомыми и т. д. Попадая на здоровые листья каштана, споры прорастают и образуют тонкую длинную бесцветную грибницу, которая пробивает стенки клеток листа, проникает внутрь их и вызывает заражение.

А. А. Еленкин [3], говоря о перезимовке гриба, указывает, что на зараженных участках листа каштана в изобилии сохраняется мицелий гриба, который снабжен запасными питательными веществами. Подобный мицелий, по его мнению, очень долго сохраняет свою жизнеспособность. Однако А. А. Еленкин не указывает перезимовывает ли этот мицелий и какое значение в дальнейшем он имеет для развития гриба.

Все наши попытки вызвать заражение листьев зимующим мицелием не увенчались успехом. Однако легко удалось вызвать заражение листьев каштана аскоспорами возбудителя.

Перитеции гриба обычно закладываются после листопада, но имеющиеся в них сумки долго не созревают. Для установления периода созревания сумки нами осенью 1956 г. было подобрано 100 опавших листьев каштана, сильно пораженных болезнью. Листья сохранялись в естественных условиях до следующей весны. Со времени листопада до начала вегетации через каждые 15 дней микроскопировалось по 20 перитециев на перезимовавших листьях и учитывалась степень зрелости аскоспор. В результате установлено, что перитеции, закладывающиеся в листьях осенью, созревают только весной, к 20—25 мая, когда среднесуточная температура устанавливается в пределах 18—20°. При более низких температурах созревание перитециев и, следовательно, имеющихся в них аскоспор значительно задерживается.

Проведены также исследования по установлению сроков начала и массового лета аскоспор, так как эти сведения необходимы для правильного планирования сроков и осуществления эффективных мер борьбы с заболеванием. Для установления срока вылета аскоспор в 1957—1958 гг. проведены наблюдения в полевых условиях. С этой целью 10 предметных стекол были смазаны тонким слоем глицерина и закреплены на шестах. Стекла устанавливались в садах на высоте 3—5 *м*. Наблюдения были начаты 18 мая, когда микроскопирование перитециев показало созревание аскоспор. Через каждые 3 дня стекла просматривали под микроскопом. На каждом предметном стекле просматривалась по 10 полей зрения при малом увеличении. Результаты наблюдения приводятся на рис. 1.

Из рисунка видно, что вылет аскоспор *Mycosph. maculiformis* начинается 23 мая и продолжается до 16 июня. С 1 июня число уловленных

спор увеличивается, что обусловлено выпадением атмосферных осадков. Период интенсивного вылета аскоспор падает на 4—10 июня, затем лет их уменьшается. Аналогичные данные получены и в 1958 г.

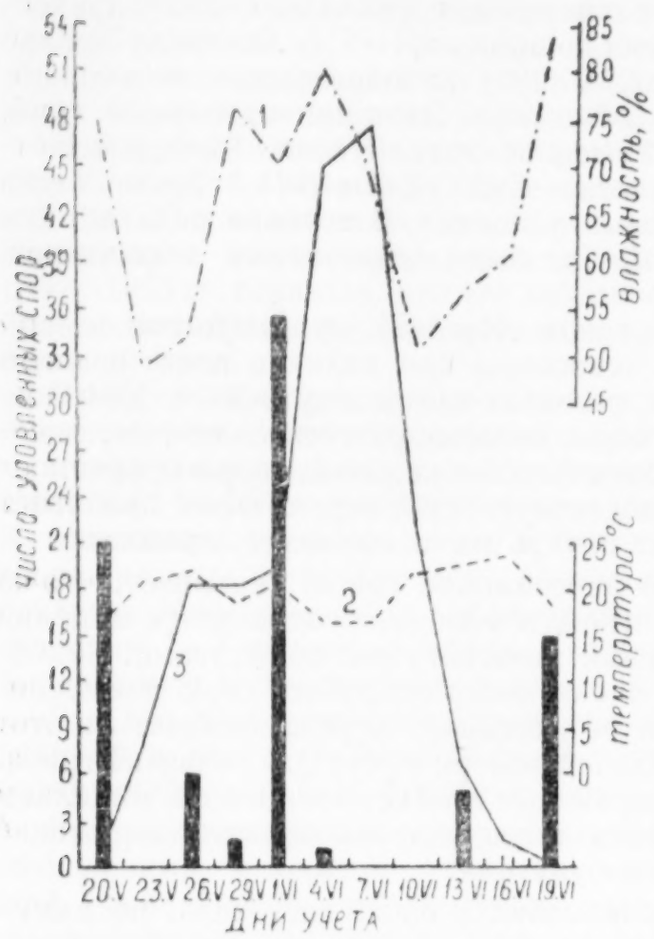


Рис. 1

Динамика вылета аскоспор *Myc. maculiformis* в полевых условиях (1957 г.).

1— относительная влажность воздуха; *2*—средняя температура воздуха; *3*—динамика вылета аскоспор. Жирные вертикальные линии — суммы осадком, *мм*.

Для роста и развития грибов температура и влажность играют важную роль. Поэтому необходимо было выяснить, какие температурные условия наиболее благоприятны для прорастания конидий и аскоспор цилиндроспороза каштана. Для этой цели конидии, взятые из пораженных участков вегетирующих листьев каштана, переносились платиновой иглой в висячую каплю, которая затем помещалась в кольцо Ван-Тигема. Кольца выдерживались в политермостате при температуре от 2 до 39°. Для установления процента прорастания просматривалось на менее 100 конидий и аскоспор в 5 полях зрения микроскопа. Результаты отражены на рис. 2.

Установлено, что через 3 часа при температуре 8° проросло 5,3% конидий, при 12°—8%, при 18°—23,3%, при 23°—51, 2%, при 28°—79,5%, при 32°—16,4% и при 36°—2,1%. Прорастание конидий при температуре 8 и 36° несколько замедлено, а при 2 и 39° вообще не наблюдается.

Температура влияет и на рост ростковых трубок конидий. При температуре 28° через 16 часов длина ростковых трубок достигает 228μ, а при 8° и той же экспозиции — в среднем лишь 38μ.

Установлено также, что при 16-часовой экспозиции и температуре 8° проросло 2% аскоспор; при 12°—15,2%; при 18°—26,7; при 23°—34,2%; при 28°—63,1%; при 32°—12,3. При температурах 2,36 и 39° прорастания аскоспор не наблюдалось.

Таким образом, оптимальной температурой для прорастания конидий и аскоспор цилиндроспороза каштана является 25—28°С.

Изучалось также влияние относительной влажности воздуха на прорастание конидий, для чего конидии гриба переносили на сухие стерильные предметные стекла, которые затем ставили в эксикаторы с влажностью воздуха 100, 90, 80, 70 и 60%. После определенной экспозиции стекла вынимали и просматривали под микроскопом. Прорастание конидий при относительной влажности 100% наступало через 8 часов, при 90%-через 12 часов, при 80%—через 18 часов, при 70%—через 16 часов, при 60% прорастания не наблюдалось.

Прорастание аскоспор при относительной влажности воздуха 100% наступало через 6 часов, при 90%—через 12 часов, при 80%-через 42 часа, при 70%—через 64 часа, при 60% аскоспоры не прорастают.

Для уточнения вирулентности перезимовавших аскоспор с 20 мая мы искусственно заражали листья каштана перезимовавшими аскоспорами гриба. Для инокуляции готовилась суспензия из спор, причем в капле воды находилось не меньше 50 спор гриба.

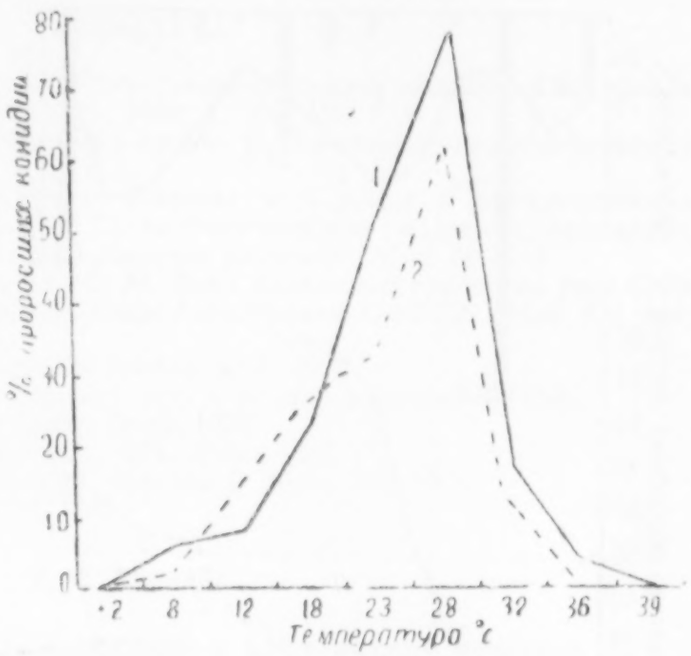


Рис. 2

Влияние температуры на прорастание спор цилиндроспороза каштана.
1—прорастание конидий гриба при 3-часовой экспозиции; *2*—прорастание аскоспор гриба при 16-часовой экспозиции.

Листья, подлежащие инокуляции, заранее на 7—10 дней помещали в целлофановые мешочки. После нанесения инокулюма листья опять изолировались. В качестве контроля использовали не инокулированные листья, которые опрыскивали стерильной водой и тоже изолировали от внешней среды. Через 10 дней после нанесения инокулюма листья тщательно осматривали. Из 10 инокулированных листьев 8 оказались зараженными возбудителем. Контрольные листья были здоровыми.

Таким образом, в условиях Азербайджана возбудитель цилиндроспороза каштана зимует в сумчатой стадии, как это было известно для стран Европы. Предположение А. А. Еленкина о перезимовке гриба в виде грибницы в наших условиях не подтвердилось.

Для установления динамики развития болезни в 1957—1958 гг. с 18 мая проводились наблюдения на 5 и 10-летних деревьях каштана. На каждом дереве было заэтикетировано по 20 листьев. Учет проводили через каждые 3 дня.

Поражение листьев каштана болезнью в 1957 г. отмечено 31 мая. В дальнейшем заболевание значительно нарастало, чему способствовали осадки (107 *мм*) и температура в пределах оптимума. Важную роль сыграло и наличие большого инфекционного запаса.

В дальнейшем интенсивному поражению листьев каштана способствует заражение их конидиями гриба, образовавшимися на молодых листьях.

По наблюдениям Берлезе и Зорауера на побережье Средиземного моря заболевание появляется значительно позже—в конце июля или в начале августа.

Таким образом, двухлетние наблюдения показали, что массовое заражение листьев каштана происходит в первой декаде июня. К началу второй декады июня почти все листья оказываются зараженными. В дальнейшем интенсивность заражения листьев каштана возрастает за счет поражения их образовавшимися конидиями.

Инкубационный период гриба равен примерно 9—11 дням. Вылет аскоспор в 1957—1958 гг. начался 23 мая, а первичные поражения листьев каштана в 1957 г. наблюдались 31 мая, а в 1958 г.—2 июня. Разрыв между массовым вылетом аскоспор и проявлением болезни в полевых условиях не превышает 9—11 дней.

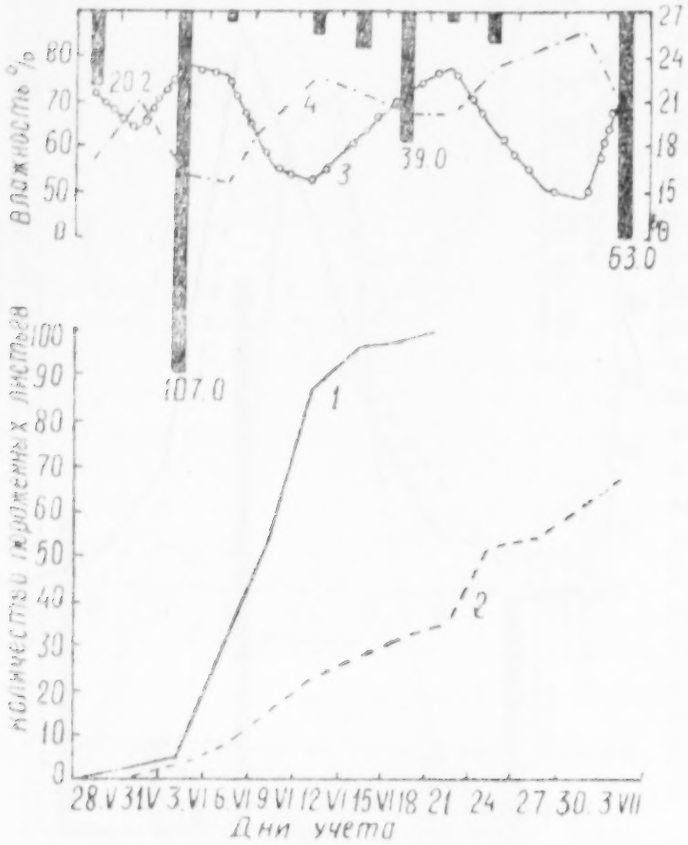


Рис. 3
Динамика развития *Cyl. castanicola* (1957 г.).
1—процент поражения; *2*—процент интенсивности поражения; *3*—относительная влажность воздуха; *4*—температура воздуха. Жирные вертикальные линии — суммы осадков, *мм*.

Искусственное заражение листьев каштана в лабораторных условиях при оптимальной температуре подтвердило наши данные о продолжительности инкубационного периода гриба, указанного нами для полевых условий.

С целью изучения специализации гриба *Cyl. castanicola* в 1957 г. в сел. Кебел-Оба Закатальского р-на мы проводили перекрестное заражение чистыми культурами гриба *Cyl. avellanum* и *Cyl. castanicola* листьев мелкого ореха, каштана, дуба, грецкого ореха, ольхи и лещины.

Опыты показали, что гриб, паразитирующий на листьях каштана, не способен заражать мелкий орех, дуб и другие близкие к нему растения, т. н. *Cyl. castanicola* является узкоспециализированным паразитом.

С 1956 г. нами также изучались культуральные признаки гриба на различных исскуственных средах.

Лучшей средой для *Cyl. castanicola* оказались бобовый и картофельный агары с глюкозой.

Установлено также, что окраска колоний гриба на различных питательных средах при изменениях температуры изменчива, тогда как при постоянной температуре резких изменений окраски не бывает.

Выводы

1. Цилиндроспороз каштана в условиях Азербайджанский ССР вызывается грибом *Cylindrosporium castanicola* (Desm.) Berl.

2. *Cyl. castanicola* в условиях Азербайджана зимует только в сумчатой стадии (*Mycosphaerella maculiformis*) на опавших листьях.

3. Инкубационный период *Cyl. castanicola* равен 9—17 дням.

4. *Cyl. castanicola* является узкоспециализированным паразитом и способен поражать только каштан.

5. Лучшей искусственной питательной средой для роста гриба *Cyl. castanicola* являются бобовой и картофельный агары с глюкозой.

7. Минимальная температура для развития гриба *Cyl. castanicola* — равна 6°, оптимальная — 25—28°, максимальная — 39°С.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ахундов Т. М. Бурая пятнистость (цилиндроспороз) каштана в Азербайджане и борьба с нею. „ДАН Азерб. ССР", 1959, т. XV, №9.
2. Васильевский Н. И., Каракулин Б. П. Паразитные несовершенные грибы. Изд-во АН СССР, 1950.
3. Еленкин А. А., Оль И. А. О болезнях культурных и дикорастущих полезных растений, собранных летом 1912 г. на Черноморском побережье, преимущественно в окрестностях курорта Гагры. „Болезни растений", 1912, № 1—2.
4. Ибрагимов Г.Р., Ахундов Т. М. Виды паразитных грибов из рода *Cylindrosporium* Grev. в Нуха-Закатальской зоне Азербайджанской ССР. „Изв. АН Азерб. ССР", 1955, №4.
5. Ячевский А. А. Определитель грибов, ч. II, 1917.
6. Berlese A. N. Bollet. di Entomol. agr. c. potolog. vegetate, III, 1896.
7. Briosi. Bullet di Notizei Agrar. Roma, 1899.
8. Ciboni. Bullet. di Notizie Agrar., XIX. Roma, 1897.
9. Ciboni. R. Stazione di Patalogia vegetale di Koma, XII, 1910.
10. Prile Molad plant. agric., II. 1897.

Т. М. Ахундов

Шабалыдда силиндроспороз хәстәлијини төрәдән көбәләјин биолокијасы

ХҮЛАСӘ

Апарылан елми-тәдгигат ишләри нәтичәсиндә мүәјјән едилмишдир ки, Азәрбајчан шәраитиндә шабалыдын ән кениш јајылмыш вә зијанверичи хәстәликләриндән бири дә силиндроспороз хәстәлијидир.

Хәстәлији әмәлә кәтирән *Cylindrosporium castanicola* (Desm.) *Berl.* көбәләјидир. О, ән әввәл Франсада Десмазер тәрәфиндән тапылмышдыр. Мүәллиф бу көбәләји *Septoria* чинсинә дахил едиб, она *S. castanicola* ады вермишдир. Сонралар алим Берлезенин апардығы ишләр көстәрмишдир ки, бу көбәләк *Septoria* дејил, *Cylindrosporium* чинсинә дахил едилмәлидир. Одур ки, Берлезе бу көбәләји *Cylindrosporium* чинсинә дахил едиб, она *Cylindrosporium castanicola* (Desm.) Berl. ады вермишдир. Азәрбајчан шәраитиндә бу көбәләк илк дәфә олараг, Гутгашен рајонунда Һ. Р. Ибраһимов тәрәфиндән тапылмышдыр.

Көбәләк шабалыд јарпаглары үзәриндә чохлу миграда кичик, түнд гәһвәји рәнкдә, бучаглы вә ја даирәви ләкәләр әмәлә кәтирир. Паразитин јастыгчыглары јарпагларын анчаг алт тәрәфиндә әмәлә кәлир. *Cyl. castanicola* көбәләји кисәли көбәләкләрдән олан *Mycosphaerella maculiformis* (Pers.) Schröet. көбәләјинин көнидија дөврүдүр. Хәстәлији әмәлә кәтирән көбәләк Азәрбајчан шәраитиндә анчаг кисәли дөврдә гышлајыр. Јазда кисәләрдән чыхмыш спорлар әтрафа јајылараг шабалыды зәдәләјир. Хәстәлијин илк нишанәләри мај ајынын сону, ијун ајынын әввәлләриндә әмәлә кәлир. Көбәләјин ингубасија дөврү 9—11 күнә бәрабәрдир. Паразит ән ихтисаслашмыш көбәләкләрдән олуб, јалныз шабалыд биткисини хәстәләндирир. Көбәләјин инкишафы үчүн ән әлверишли сүн'и гидалы мүһит лобја вә глүкозалы картоф агарыдыр. Хәстәлијин инкишафы үчүн минимум температур +6, оптимум —25—28, максимум исә 39°С-дир.

schematisch dargestellt. Die Beziehungen zwischen Licht-und Temperaturfaktoren sind für alle Provenienzforschungen wichtig, wie VAARTAJA (4) in seinem Versuch mit Pappelpflanzen ausführt, wobei auch ein Beispiel mit Fichte diskutiert wird. Aus diesen Verhaltnissen kann die höhere Gesamthöhenwuchsleistung eines Klons trotz früherer Beendigung Sprosswachstums im südlichen Gebiet erklärt werden.

Die vorliegende Arbeit wurde unter Leitun von Herrn Professor T. INOKUMA gefertigt. Die Verfasser sagen Herrn Professor INOKUMA für Anregung und Herrn T. YAMANAKA für freundliche Hilfe aufrichtig Dank.

Schrifttum

1. HESMER, H.: Das Pappelbuch, Bonn. 72—76. 1951
2. Japan meteorological agency; Monthly reports of the Japan meteorological agency, Meteorological observations for 1959.
3. PAUREY, S.S. und PERRY, T.O.: Ecotipic variation of the photoperiodic response in *Populus*. Jour. Arnold Arboretum, 35: 167—188. 1954
4. VAARTAJA, O.: Ecotipic variation of photoperiodic response in trees especially in two *Populus* species. Forest Science, 6 (3): 200—206. 1960

研究会その他のおしらせ

第72回本会大会前後における

○林地肥培研究会

と き： 4月5日（木）9時30分～15時
ところ： 港区西久保明舟町18 日本消防会館大会議室
行 事： 総 会（9時30分～11時30分）
第2回肥培コンクール受賞式および受賞者体験談（11時30分～14時）
シンポジューム（14時～17時）林地肥培効果の評価について

○林木生理シンポジュウム

と き： 4月7日（土）17時30分～20時
ところ： 東大正門前養賢堂 2階 向上会館
話 題： 営養生理について 農林省農業技術研究所 村山 登
〃 林業試験場 塘 隆男

○林業経済研究会

と き： 4月5日（木）9時～17時
ところ： 目黒区下目黒 農林省林業試験場会議室
行 事： 講 演 日本の林業労働問題 林業経営研究所 田中純一
林業労働問題の所在とその解決への方向 宇都宮大学 大崎六郎
特別講演 ヨーロッパにおける林業経済研究の動向 九州大学 塩谷 勉

○林木育種協会

と き： 4月4日（水）9時30分～16時
ところ： 港区西久保明舟町18 日本消防会館大会議室
行 事： 総会並びに育種賞受賞者講演（9時30分～12時）
シンポジューム（13時～16時）林木育種事業のすすめかた

○森林利用研究会

と き： 4月5日（木）13時～17時
ところ： 東大構内 学士会館6号室
行 事： シンポジューム 林道の機械化施行について

Overwintering of some leaf-attacking fungi of poplars

Takao KOBAYASHI* and Osamu CHIBA*

ポプラ類の葉を侵す3種の病原菌の越冬

小林享夫*・千葉　修*

要旨　ポプラ類の葉を侵すセプトチス葉枯病菌（*Septotis populiperda* (MOESZ et SMARODS) WAT. et CASH），マルソニナ落葉病菌（*Marssonina brunnea* (ELL. et EV.) MAGNUS）および輪斑病菌（*Phyllosticta populorum* SACC. et ROUM.）の越冬をしらべた。セプトチス葉枯病菌は秋おそく病落葉の葉身部および葉脈中に3～5mmの小さな黒色扁平の菌核をつくつて越冬し，翌春3月下旬～4月上旬のあいだに，菌核から子嚢盤を発生する。まれには枯れた若枝上で，分生子褥が成熟したまま越冬することもある。子嚢盤発生の適温は日平均気温10～15°Cであり，したがつて年に2回（春，秋）発生の機会をもつが，実際には，落葉上の菌核からの子嚢盤の発生は翌春1回だけ認められ，その後は菌核は子嚢盤を発生する能力をうしなう。マルソニナ落葉病菌は病落葉の組織中で菌糸のまま越冬し，翌春5～6月に新らしく分生子堆をつくり，分生胞子を形成する。輪斑病菌も落葉組織中の菌糸が越冬して，翌春4～5月に新らしい柄子殻をつくり，分生胞子を形成する。

Abstract　Mode of overwintering of three leaf-attacking fungi of poplars, namely *Septotis populiperda* (MOESZ et SMARODS) WAT. et CASH causing leaf blotch, *Marssonina brunnea* (ELL. et EV.) MAGNUS causing Marssonina leaf blight and *Phyllosticta populorum* SACC. et ROUM. causing Phyllosticta ring spot, was studied. *Septotis populiperda* usually overwinters by sclerotia produced in late autumn on the fallen diseased leaves. In the following spring, late March to early, April, apothecia of this fungus develop from these sclerotia. Thereafter, these sclerotia lost their ability for development of apothecia. Optimum temperature for apothecial development of *S. populiperda* seems to be ranged between 10 to 15°C of mean air temperature. It was rarely observed that matured sporodochia of this fungus overwintered on dead shoot. *Marssonina brunnea* and *Phyllosticta populorum* overwinter within the tissue of fallen diseased leaves. The former fungus produces new acervuli in the following spring, May to June, around old lesions. Numerous conidia are produced on them and then disappear during June to early July. In the latter fungus, many pycnidia are newly produced in April. Conidia being produced in such pycnidia disappear during late April to May.

1. *Septotis populiperda* (Moesz et Smarods) Waterman et Cash

a. Overwintering on the fallen diseased leaves

Perfect stage of *S. populiperda* was first reported by WATERMAN and CASH[8] from America. They obtained mature apothecia from sclerotia which were produced on agar media, identified them as a new member of the genus *Septotinia* and named it as *Septotinia populiperda* WATERMAN et CASH. Secondary, Van den ENDE[7] observed apothecial stage of this fungus on the fallen leaves from spring to early summer in Holland. As noted in the earlier reports[1)3)], the writers also obtained apothecial stage of this *Septotis* from sclerotia which were produced on agar media, in autumn of 1958. Thereafter, in order to obtain apothecia under natural condition in our country and to ascertain the mode of overwintering of this fungus on the diseased leaves, some experiments carried out from autumn of 1958 to spring of 1959. On September 28, 1958, each ten leaves of three clones of poplars, *Populus deltoides*, *P. marilandica* and *P.*"*Leipzig*", were collected at Kamabuchi nursery of the Government Forest Experiment Station. At that time, these leaves had typical zonate blotches, on which numerous white powdery sporodochia of this fungus were recognized. Materials were sent to our laboratory in Tokyo and immediately placed on soil in small pots. Then, these pots were kept out of doors and observations were carried on till the following spring at intervals. Results of these observations are summarized in table 1.

* Government Forest Experiment Station, Meguro, Tokyo, Japan. 農林省林業試験場

Table 1. Overwintering of *Septotis populiperda* on the fallen diseased leaves of poplars (*Populus deltoides*, *P. marilandica* and *P. "Leipzig"*)

Date observed	Conidia	Sclerotia	Apothecia
X-3, 1958	+	−	−
X-10, 〃	−	−	−
XI-14, 〃	−	+	−
XII-10, 〃	−	+	−
I-16, 1959	−	+	−
II-28, 〃	−	+	−
III-27, 〃	−	+	+
IV-13, 〃	−	+	+
IV-26, 〃	−	+	−
V-14 〃	−	+	−

As shown in table 1, no conidia were found on the tested leaves at the end of the first week. About a month after, a number of sclerotia which were minute (3—5mm), flat, angular and black, were produced within the tissue of leaf bladesand leaf vines. Almost all of the leaf blades were destroyed during winter, while leaf veins and sclerotia remained intact. On March2 7, 1959, several apothecia developed from sclerotia (Photo. 1) and apothecial development contin ued until early April. Development of apothecia were ceased on April 13. Number of apothecia developed from a single sclerotium were one to several. Although period of apothecial development was very short, results of our observations on the mode of overwintering of this fungus on the leaves and the season of year for apothecial development agreed with those reported from Holland[7].

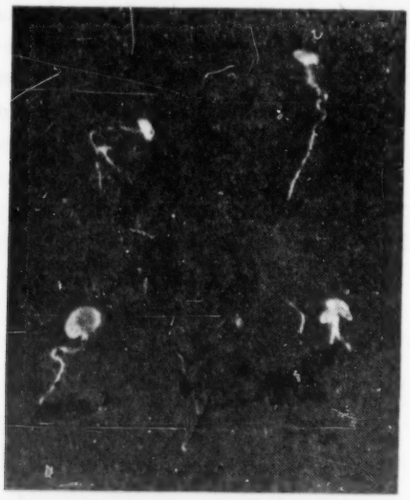


Photo. 1 Apothecia of *Septotinia populiperda* Waterman et Cash developed from sclerotia produced on fallen diseased leaves

b. Duration and longevity of apothcial development of sclerotia

The experiments were conducted for three years to confirm the duration and longevity of apothecial development of sclerotia of this fungus. The first experiment was started in August of 1958, when sclerotia produced on agar media were sowed in pot containing sand. Second experimenl was set out in Novemder of 1958, when sclerotia on diseased leaves were sowed. Sclerotia produced on agar media are usually larger than those on diseased leaves. Results of these experiments were given in table 2.

As shown in table 2, sclerotia from agar media developed apothecia in two times, first in autumn of 1958 and secondarly in spring of 1959. On the other hand, sclerotia formed on leaves developed apothecia only once, in spring of 1959. Thereafter. no apothecial development was found

Table 2. Longevity of ability for apothecial development of sclerotia of *Septotis populiperda*

Season \ Source of sclerotia	Date sowed sclerotia	August, 1958	November, 1958		
		Culture from conidia	Diaeased leaves of		
			P. deltoides	*P. marilandica*	*P. "Leipzig"*
Autumn, 1958		+			
Spring, 1959		·	++	++	++
Autumn, 〃			−	−	−
Spring, 1960			−	−	−
Autumn, 〃			−	−	−

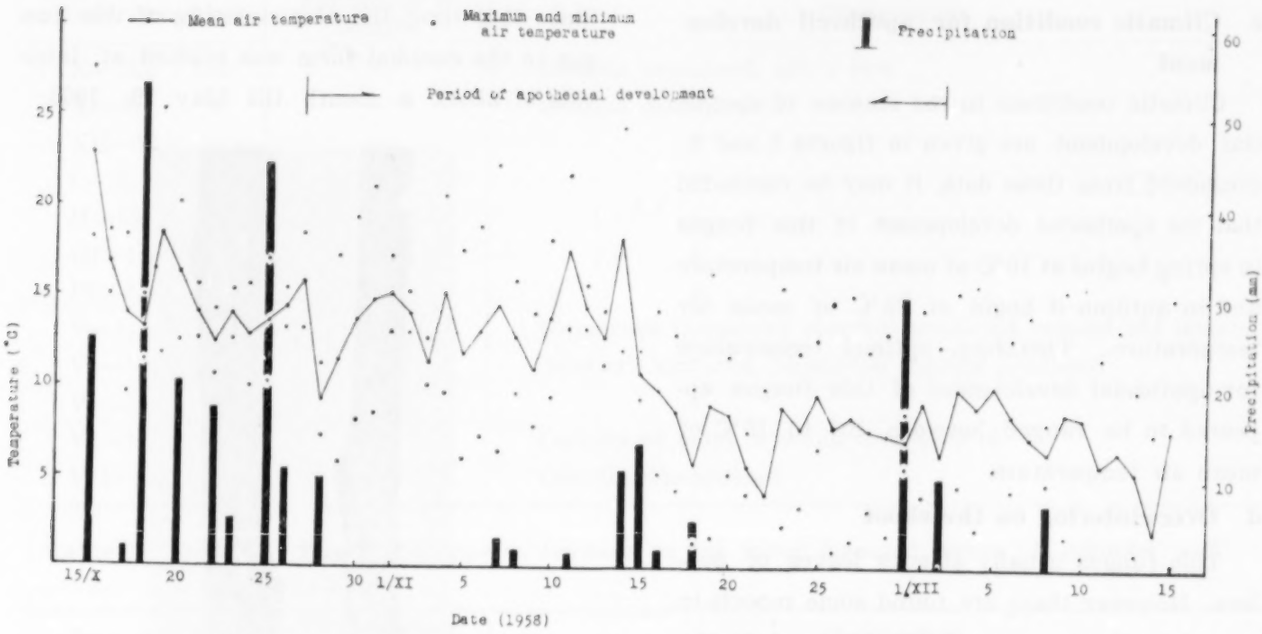


Fig. 1　Climatic conditions in the season of apothecial development (autumn)

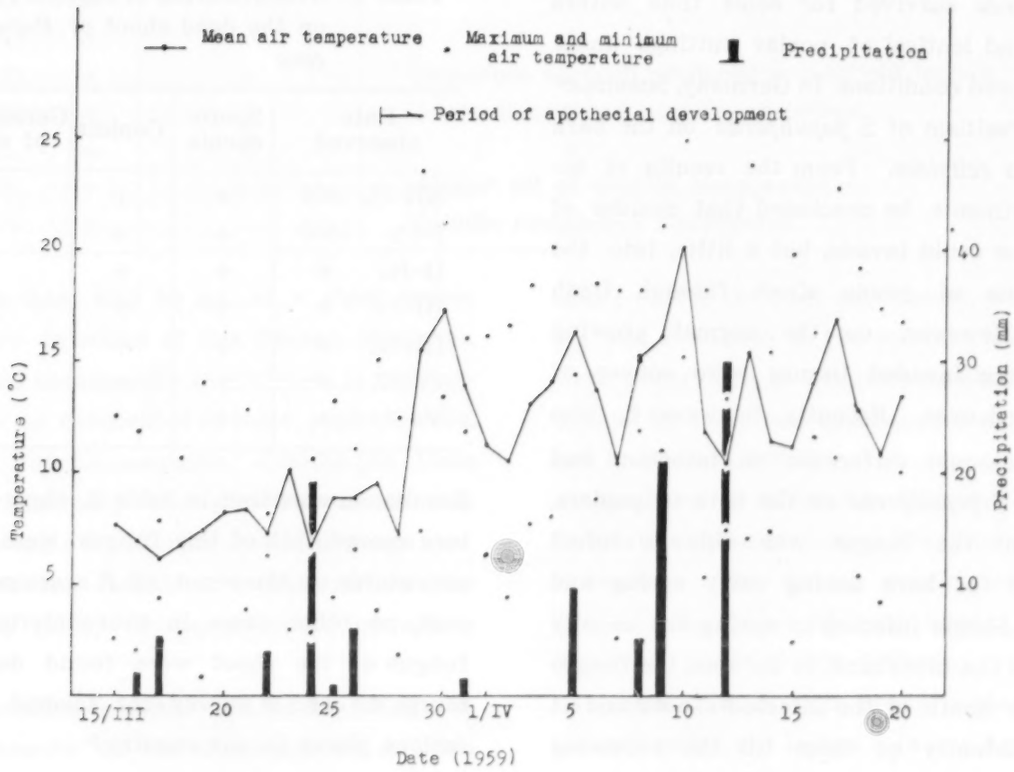


Fig. 2　Climatic conditions in the season of apothecial develpment (spring)

and these experiments were finished in late autumn of 1960.

c. Climatic condition for apothecil development

Climatic conditions in the seasons of apothecial development are given in figures 1 and 2. Considerd from these data, it may be concluded that the apothecial development of this fungus in spring begins at 10°C of mean air temperature and in autumn it begin at 15°C of mean air temperature. Therefore, optimal temperature for apothecial development of this fungus appeared to be ranged between 10° to 15°C of mean air temperature.

d. Overwintering on the shoot

This fungus usually attacks leaves of poplars. However, there are found some reports in regard to the invasion of this fungus onto the bark tissue of shoots and possibility of overwintering on them. In Ameria, WATERMAM *et al* [2)9)10)] proved experimentally that conidia of *S. populiperda* survived for some time within the bud and lenticel of poplar cuttings under certain stored conditions. In Germany, SCHMIDLE[4)] tested parasitism of *S. populiperda* on the bark of *Populus deltoides*. From the results of severl experiments, he concluded that conidia of this fungus could invade, but a little, into the bark tissue of young shoot through fresh wound. However, on the normal growing plants these invaded tissues were sooner or later healed over. Recently, SCHWENKE[5)], who studied seasonal difference in infection and spread of *S. populiperda* on the bark of poplars, stated that the fungus was able to infect frequently the bark during early spring and autumn. Shoots infected in spring are usually killed. On the otherhand, in autumn, the fungus causes no death of the infected shoots and it inhabits latently on them till the following spring. Utilization of these shoots as cuttings brings about high mortality of them.

In December of 1959, the present writers found several dead shoots of *Populus canescens* on which mature sporodochia of this fungus were recognized (Photo. 2), at Asakawa nursery of the Government Forest Experiment Station. Since that time, the overwintering of this fungus in the conidial form was studied at intervals of about a month till May 19, 1960.

Photo. 2 Dead shoots of *Populus canescens* having mature sporodochia

Table 3. Overwintering of *Septotis populiperda* on the dead shoot of *Populus canescens*

Date observed	Sporodochia	Conidia	Germinability of conidia
XII-15, 1959	+	+	+
I-15, 1960	+	+	+
II-16, 〃	+	+	+
III-11, 〃	+	+	+
III-21, 〃	+	+	+
IV-12, 〃	+	+	+
V-19, 〃	+	+	+

Results, summarized in table 3, show that mature sporodochia of this fungus were able to overwinter on the shoot of *P. canescens*. However, no other cases in overwintering of this fungus on the shoot were found during the course of careful survey for several years in various places in our country [3)].

From the results of the experiments a) and d), it seems possible that *Septotis populiperda* causing leaf blotch of poplars usually overwinters on the fallen diseased leaves in our country and that ascospores being produced in

Table 4. Overwintering of *Marssonina brunnea* on the fallen diseased leaves (*Populus deltoides* and *P. euramericana* I—154)—I

Date observed	Formation of conidia	Observation
X—15, 1957	+	Conidia remained, but a few
XI—5, 〃	−	Conidia disappeared
XII—15, 〃	−	〃
I—10, 1958	−	〃
II—13, 〃	−	〃
III—11, 〃	−	〃
IV—7, 〃	−	〃
V—1, 〃	±	Numerous immature acervuli produced around old lesions
V—15, 〃	+	Acervuli matured, numerous conidia produced
VI—2, 〃	+	〃
VI—18, 〃	+−	Conidia of some acervuli disappeared
VII—12, 〃	−	Conidia disappeared

Table 5. Overwintering of *Marssonina brunnea* on tne fallen diseased leaves (*P. deltoides* and *P. simonii*)—II

Date observed	Formation of conidia	Observation
X—3, 1958	+	Numerous conidia remained
XI—14, 〃	−	Conidia disappeared
XII—10, 〃	−	〃
I—16, 1959	−	〃
II—14, 〃	−	〃
III—20, 〃	+	Immature acervuli produced around old lesions
IV—28, 〃	+	Acervuli matured, conidia numerous
V—21, 〃	+	〃
VI—5, 〃	+−	Almost all of conidia disappeared
VI—15 〃	−	Conidia completely disappeared

spring on them may be act as a chief source of primary infection of this disease. Moreover, the fungus occasionally overwinters in the conidial form on dead shoot of some poplar clones, such as *Populus canescens*. Conidia on them kept germinability during winter season as shown in table 3. Consequently, it seems probable that the conidia overwintered on the shoot may partly act as a source of spring infection.

2. ***Marssonina brunnea*** **(Ell. et Ev.) Magnus**

Experiments on the overwintering of this *Marssonina*, the causal organism of blight of poplars, were made in two times from autumn of 1957 to spring of 1959. Diseased leaves in wirecages were placed out of doors in autumn. Materials used were leaves of *Populus euramericana* I—154 in the first experiment, and *P. deltoides* and *P. simonii* in the second. Observations were undertaken at intervals of about a month. Resalts of these two experiments are summarized in tables 4 and 5.

As shown in tables 4 and 5, conidia of this fungus disappeared during late October to early November. The fungus overwintered in the tissue of the fallen diseased leaves. On late March to April of the following year, young immature acervuli were newly produced on the leaves besides old lesions. In late April to May, acervuli matured and numerous conidia were produced. Acervuli which were formed on the overwintered leaves were smaller than those on the diseased leaves found in the growing season. White sticky masses of conidia which are

usually found in the growing season were not produced. Differences in the date of maturity of acervuli and disappearance of conidia found in tables 4 and 5 may be attributed to the climatic conditions during these two spring seasons. The perfect stage of this fungus was not produced on the fallen diseased leaves at all. In America, THOMPSON [6] reported that *Marssonina rhabdospora*, which causes leaf spot of poplars and distinctly differs from our *M. brunnea* by its larger and narrower conidia, forms perfect stage on the fallen diseased leaves in spring. He named it *Pleuroceras populi* as a new species. No other records were found in regard to overwintering and formation of perfect stage in the species of *Marssonina* described on woody plants, so far as the writers are aware. Some attempts to obtain the perfect stage of this fungus under laboratory and field conditions were unsuccessful. Consequently, it seemed that the conidia newly produced on the fallen leaves in spring may by a source of primary infection of this disease.

3. *Phyllosticta populorum* Sacc. et Roum.

To know the mode of overwintering of this fungus, causing ring spot of poplars, an experiment was carried out from October 18, 1958 to May 26, 1959. Diseased leaves of *Populus marilandica* and *P. euramericana* I—455 were collected at Asakawa nursery. These materials, which had numerous mature pycnidia, were placed out of doors in wirecages. Results of this observation are summarized in table 6.

As shown in table 6, conidia of this fungus found on the diseased leaves disappeared on December 2, 1958. On February 28, 1959, it was found that the young immature pycnidia were formed on the leaves around old lesions. These pycnidia matured on April 13, 1959. Newly produced pycnospores disappeared on May 26, 1959. No formation of the perfect stage of this fungus was observed at all.

The writers wish to express their special appreciation to Dr. Kazuo ITO, Chief of the Laboratory of Forest Pathology, Government Forest Experiment Station, for his critical suggestions during the course of this study and helpful advice in preparation of this manuscript.

Literature

1. CHIBA, O. and KOBAYASHI, T.: Jour. Jap. For. Soc. **41**: 142—147, 1959
2. FORD, H. F. and WATERMAN, A. M.: Pl. Dis. Rept. **38**: 101—105, 1954
3. KOBAYASHI, T. and CHIBA, O.: Bull. Gov. For. Sta. **130**: 1—43, 1961
4. Schmidle, A.: Angewandte Botanik **29**(1): 14—25, 1955
5. SCHWENKE, H. J.: Phytop. Zeits. **38**: 69—82, 1960
6. THOMPSON, G. E.: Mycol. **46**: 652—659, 1954
7. Van den ENDE, G.: Tijdschr. Plziekt. **60**: 253—255, 1954
8. WATERMAN, A. M. and CASH, Edith K.: Mycol. **42**: 374—384, 1950
9. —— and ALDRICH, K. F.: Pl. Dis. Rept. **36**: 203—207, 1952
10. —— and ——: *Ibid.* **38**: 96—100, 1954

Table 6. Overwintering of *Phyllosticta populorum* on the fallen diseased leaves

Date observed	Formation of pycnospores		Observation
	P. marilandica	*P. euramericana* I—455	
X—18, 1958	+	+	Numerous Pycnospores remained
XII—2. 〃	−	−	Pycnospores disappeared
II—28, 1959	±	±	Immature pycnidia found around old lesions
III—20, 〃	±	±	〃
IV—13, 〃	+	+	Pycnidia matured, pycnospores numerous
IV—28, 〃	+	+	〃
V—26, 〃	−	−	Pycnospores disappeared

資料・雑録

スラッシュマツ（*Pinus elliottii* ENGELM. var *elliottii*）稚苗の発根性質について（1）‡

山路木曽男*

1. まえがき

1956年佐藤[1]によつて，主なる針葉樹の発根の解剖学的研究がなされた。その後これらの稚苗を材料とした発根の実験は少ないようである。筆者は，1961年の6月に，たまたま，徳島県下で造林がおこなわれている，豪州産カリビアマツが，山出し後枯損する割合が少ないことを見聞し，その原因の一つとして，県林業指導所における養苗のなかで，豪州産カリビアマツが，発芽後，種皮が稚苗から落下する頃，ただちに，移植する方法を見て，この養苗方法が，根を刺戟して，発根を促進する床替と同様なる意味をもつものではなかろうかと考えた。そこで，上長生長のよい北米大陸の南部を原産地とする，テーダマツ，スラツシュマツ，カリビアマツにとつては，この方法によつて根系の豊富な苗木が生産されるならば，はなはだ好都合な養苗技術であるので，稚苗のときの旺盛な根の再生が，マツの種類によつて，どのような関係にあるかを知るために，1961年の4月に本場苗畑に，まき付けした比較的に素性の明らかな外国産マツの4種類を材料にして実験を行なつた。また，比較のために，クロマツ，アカマツをも供試材料に含めた。実験後日37目に堀り取り調査した結果，スラツシユマツに，興味のある知見を得たので報告する。

この研究は外国産樹種の特性に関する研究の一れんのもので，特に良き指導者であつた，草下正夫技官（在パキスタン）ならびに，現室長林彌栄技官に感謝するとともに，外国産タネの入手に御便宜をはかられた岩川盈夫技官にお礼をのべる。

2. 材料ならびに実験期間

(イ) 材料に供したタネの種類と素性

(A) ストローブマツ（*Pinus strobus*）北米. NEW YORK 州 1960.

(B) テーダマツ（*Pinus taeda*）北米. GEORGIA 州 1960.

(C) スラツシユマツ（*Pinus elliottii var. elliottii*）北米。SOUTH CAROLINA 州 1960.

(D) カリビアマツ（*pinus caribaea*）BRITISH HONDRAS 1960.

(E) クロマツ（*Pinus Thumbergii*）青森営林局管内市浦営林署 1960.

(F) アカマツ（*Pinus densiflora*）熊本営林局管内加治木営林署 1960.

(ロ) まき付け，ならびに播種床の施肥量

※まき付け月日　1961年4月3日

※まき付け場所　農林省林業試験場苗畑（東京，目黒）

※播種床の施肥量1 m² あて（まき付けする10日前に施肥）

堆肥1.7kg　硫酸アンモニア 40 g

過隣酸石灰48 g　硫酸加里16 g

(ハ) 実験施行日ならびに調査月日

※実験施行月日　1961年6月19日

※調査月日　1961年7月25日

3. 実験方法

まき付け後，78日目の6月19日に，苗畑から，各種類10本ずつの稚苗を，合計60本，資料瓶に採取し，根の部分は水に浸漬して，実験室に持ちかえり，ただちに，1種類10本のうち5本は，地上部と地下部のサカイとなつていた部分を解剖鋏で切断した。これらを(A′)ストローブマツ，(B′)テーダマツ，(C′)スラツシユマツ，(D′)カリビアマツ，(E′)クロマツ，(F′)アカマツの処理区とした。また，残りの各5本は，同一鉢に，(A)ストローブマツ(B)テーダマツ(C)スラツシユマツ(D)カリビアマツ(E)クロマツ(F)アカマツとし各5本ずつ，根のあるまま対照区として植えつけた。

鉢土は，京都産の赤土を用い，床土は水を加えてよく混合し，柔らかい粘土状にしたところへ，根の無いものは，約1 cmさし付けし，根のあるのは，普通に植えつけた。これらの鉢は，その日のうちに，戸外に出し，太陽の直射光線をさけるために，4日間は日蔭に置き，それ以後は，十分に太陽にあて，灌水は，雨天のほかは，毎朝1回，鉢に水が溜るぐらい与えた。

4. 実験結果

7月25日，実施後37日目に堀り調査の結果，生存本数は第1図のとおりであり，5本ともに生存していたもの

‡ Kisoo YAMAJI: Character of rooting on slash pine seedling.

* 農林省林業試験場 Gov. Forest Exp. Sta. Meguro, Tokyo

382

PLANT AND SOIL

International Journal of Plant Nutrition, Plant Chemistry, Soil Microbiology and Soil-borne Plant Diseases

Revue internationale de nutrition des plantes, de chimie végétale, de microbiologie du sol et des maladies des plantes en rapport avec le sol

Internationale Zeitschrift für Pflanzenernährung, Pflanzenchemie, Bodenmikrobiologie und bodenbedingte Pflanzenkrankheiten

Issued under the auspices of the
"Koninklijk Genootschap voor Landbouwwetenschap"
(Royal Netherlands Society of Agricultural Science)

Executive Editors: D. I. Arnon, Berkeley; J. Baeyens, Louvain; F. C. Gerretsen, Groningen; G. W. Harmsen, Groningen; E. G. Mulder, Wageningen; F. J. Richards, London; A. C. Schuffelen, Wageningen; F. Steenbjerg, Copenhagen.

Secretary: G. H. Arnold

Assistant Secretary: J. K. Smit

c/o Institute for Soil Fertility
Groningen, Netherlands

Consulting Editors: Wm. A. Albrecht, Columbia, Mo.; C. Arnaudi, Milan; E. Gäumann, Zurich; L. Gisiger, Liebefeld-Berne; F. G. Gregory, London; A. J. de Groot, Groningen; W. R. C. Handley, Oxford; J. L. Harley, Oxford; J. den Holder, Ghent; V. J. Koningsberger, Utrecht; J. Lavollay, Paris; L. Leyton, Oxford; W. J. Lütjeharms, Bloemfontein; H. Lundegårdh, Uppsala; E. Melin, Uppsala; M. Ødelien, Ås; E. J. Petersen, Copenhagen; C. S. Piper, Adelaide; D. Snow, Reading; H. G. Thornton, Harpenden, Herts.; S. Tovborg Jensen, Copenhagen; A. I. Virtanen, Helsinki; S. A. Waksman, New Brunswick; F. W. Went, Pasadena; L. K. Wiersum, Groningen;

The Editors are - if necessary - advised by experts from the Staff of the Institute for Soil Fertility, Groningen

Printed in the Netherlands

Plant and Soil XVI, 269-400. The Hague June 1962

Plant and Soil XVI, no. 3 June 1962

NITROGEN METABOLISM AND WATER REGIME OF RICE PLANT AFFECTED BY "BRUSONE" DISEASE

by F. ZSOLDOS

Department of Plant Physiology, University of Szeged, Hungary

INTRODUCTION

Diseases of rice lead to great economic losses in some countries. In the temperate zone one of the most important disease of rice is the so called "brusone"; the damage by *Piricularia oryzae* is generally meant by this term [6 13 16]. In Hungary this disease of the rice results in serious damage to the rice crop if, in the period between tillering and full ripening and particularly during flowering, the weather conditions are unfavourable (cloudy and cold weather). At least in Hungary, the susceptible rice varieties are affected particularly if grown on soils containing little lime. The variety Dunghan Shali, imported from Turkestan, is one of the most susceptible rice varieties. In spite of this, Dunghan Shali is widely grown because of its excellent quality. Resistant or susceptible varieties grown on other soils are little damaged.

Opinions differ as to the origin of the disease. Parasitic attack is most widely accepted although some hold that the disease can only be attributed to a physiological disturbance of the host plant [13 14 19]. It has often been observed that luxurious vegetative growth of the rice plant favours the development of brusone. The luxurious growth is mostly due to an abundant supply of nitrogen. Therefore, a thorough study of nitrogen metabolism of the rice plant affected by brusone seemed to be warranted. Studies were undertaken to shed some light on the problem as to how far the factors favouring brusone development (abundant N-supply, unfavourable weather) affect the level of free amino acids, and the total and protein nitrogen content of the tissues. The physological

activity of the root system, particularly its water regime, was also studied from the point of view of brusone development. Investigations into the details of metabolic disturbances associated with brusone migth yield some clue as to the elucidation of the causes leading to the disease and might also contribute to the development of control measures.

MATERIALS AND METHODS

The experiments were carried out partly in culture plots and partly under natural conditions. The susceptible variety Dunghan Shali and the resistant variety Precoce Allorio were used throughout the experiments. Total and protein nitrogen of rice plants was determined by conventional procedures [7 17]. Collection of bleeding sap was performed at night throughout eight hours.

The free amino acids were determined in the alcohol extract of leaves by paper chromatography (paper Schleicher & Schüll). The solvent used was a mixture of butanol : acetic acid : water (2 : 1 : 1). The chromatograms were sprayed with 0.2% ninhydrin dissolved in acetone and exposed to 60°C for 3 to 5 minutes and then kept at room temperature for 12 hours in the dark.

For artificial induction of brusone NH_4-N proved to be the most suitable [19]. In our experiments from 1 to 2 tons ammonium sulphate per hectare were used. It is to be noted, the ratio of 1 ton per hectare induced the disease only under unfavourable weather conditions. Artificial cooling of the parcels was carried out by Wagner [28].

RESULTS

It is well known that the uptake of nitrogen from a medium above a certain limit is not governed by its utilization for protein synthesis and growth [12]. Therefore, extraordinarily high nitrogen doses in the soil or in sand cultures lead to the accumulation of toxic amounts of ammonium ions in the tissues, particularly in those of the root system [30]. Under these conditions the root/shoot and the protein-N/soluble-N ratios undergo an unfavourable shift in favour of the latter (Table 1). The shift of the root/shoot ratio can be observed even with young plants grown in sand culture (Fig. 1).

The accumulation of ammonia above a certain level is greatly toxic to the plant cell [4]. The disturbances of root growth [25] adversely affects the nutrition of the plant and particularly its water balance.

TABLE 1

Nitrogen content of the leaves of healthy and diseased rice plants

Plants	Total-N (% dry matter)	Protein-N (% dry matter)	Protein-N (% total-N)
Healthy plants	2.18	1.58	72.43
Healthy plants with additional nitrogen	3.02	2.12	70.19
Plants with brusone induced by abundant N	3.78	2.46	65.07
Plants showing physiological drought	2.55	1.68	65.88

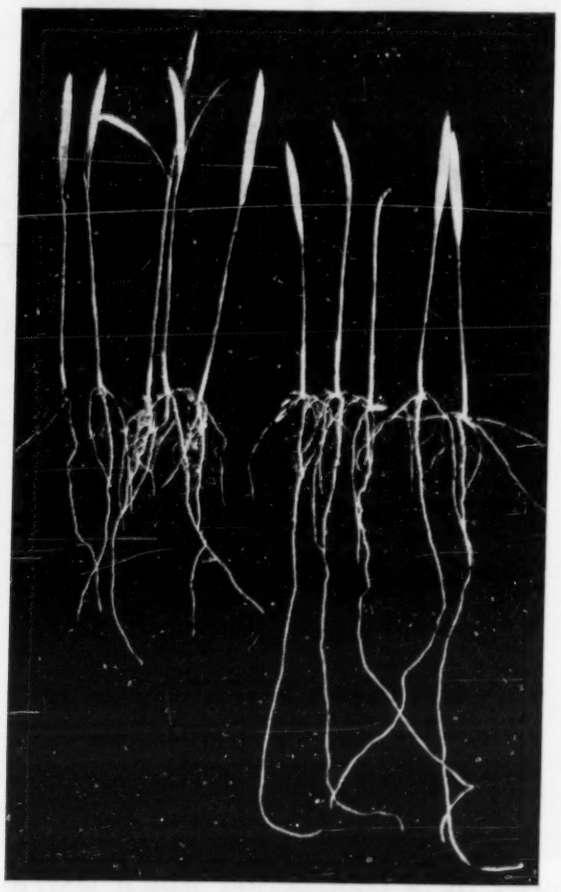


Fig. 1. The effect of nitrogen on the growth of root and shoot. At the *left* with nitrogen, at the *right* control.

Consequently, the phenomenon of "physiological drought" is often observed and this leads to irreversible changes in the plant metabolism. The rice plant is particularly sensitive to high water losses, probably due to its characteristic anatomical structure. The root

of the rice plant contains large intercellular spaces (Fig. 2). By contrast, the number of cells rich in cytoplasm is relatively low and this is apparently disadvantageous from the point of view of water economy.

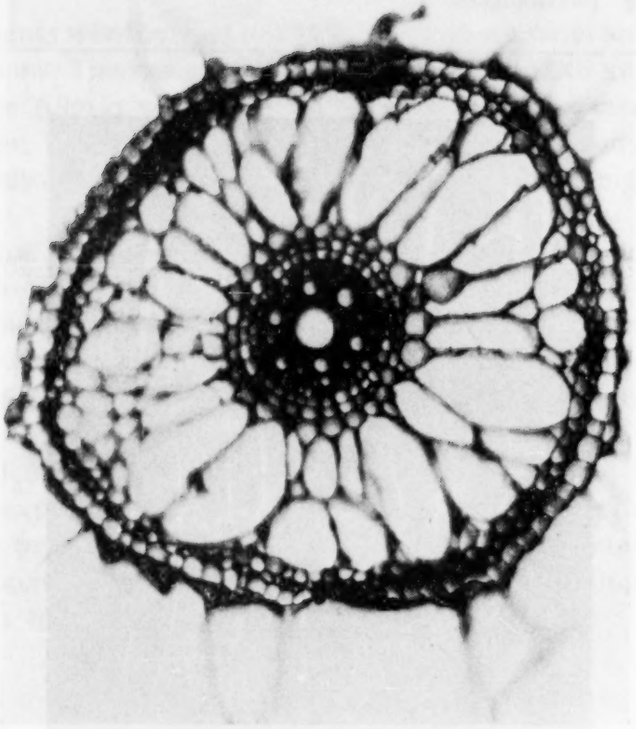


Fig. 2. Cross section of rice root.

The development of "physiological drought" might be explained on the basis of meteorological observations as follows: In the so-called "brusone years" in Hungary the warm summer period is rapidly followed by a cool period which last for 8 to 10 days (mostly in August). This is associated with a marked reduction of the number of sunny hours. Due to the weather the temperature of upper layers of the irrigation water and those of the soil decreases [15 28]. Later on, when a new warm period sets in, the rapid increase in air temperature is followed by that of the soil only after a fairly long lag period, particularly if the water level is high. Under these conditions the difference between the temperature of the

medium surrounding the above-ground parts and the roots may amount to as much as 10 to 15°C [28].

Due to the low temperature first of all the water uptake is inhibited [8] and the intensive transparition leads to water stress. The danger of disturbances of the water balance is especially great if the plants are treated with heavy nitrogen doses and the development of the above-ground parts surpasses that of the root system. The physiological condition of these plants is called "physiological drought" [15 23] which is elicited – at least in the case of the rice plant – by the insufficient water supply.

The observation that various rice varieties respond differently to artificial cooling in the field (to 13–15°C) and to the resulting physiological drought, might have a bearing on resistance breeding as well. It has been found that the susceptible Dunghan Shali is highly affected by physiological drought, whereas the brusone resistant Precoce Allorio proved greatly resistant to physiological drought (Fig. 3).

Fig. 3. The effect of physiological drought on rice varieties (on the *left*: Dunghan Shali; on the *right*: Precoce Allorio)

The metabolic basis of the differential behaviour of rice varieties towards physiological drought is not known. It is likely that in addition to hereditary properties the anatomical structure, the development of root system and the root/shoot ratio all play an important role.

The amount of bleeding sap produced by various rice varieties was also studied. It was found that the brusone-resistant varieties, in the later phases of their development (after tillering), produce 30 to 40 per cent higher amounts of bleeding sap than the susceptible ones. This is explained by their highly developed root system. Differences in the development of the root system of susceptible and resistant varieties are shown in Fig. 3a. These observations also direct our attention to the relation between the activity of the root system (water supply) and brusone development.

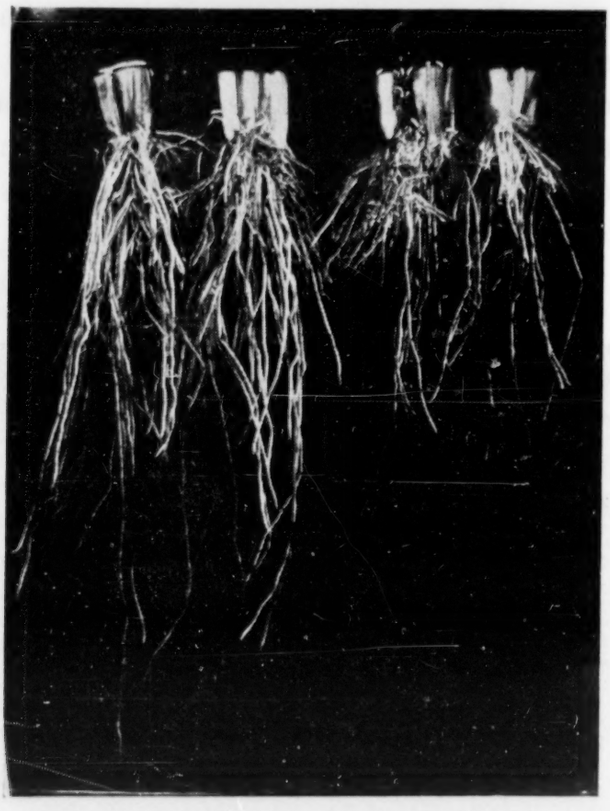


Fig. 3a. Root system of a resistant (*left*) and a susceptible (*right*) rice variety.

Comparative studies on the nitrogen balance of healthy and infected rice plants indicated that in the diseased tissues the amount of total and protein nitrogen, on a dry-weight basis, is much higher than in the controls (Table 1). However, the protein-N, expressed on a total-N basis, is less in the diseased plants. This and the increase in free amino acids (Fig. 4) indicates that the balance of nitrogen metabolism is shifted towards protein breakdown both in

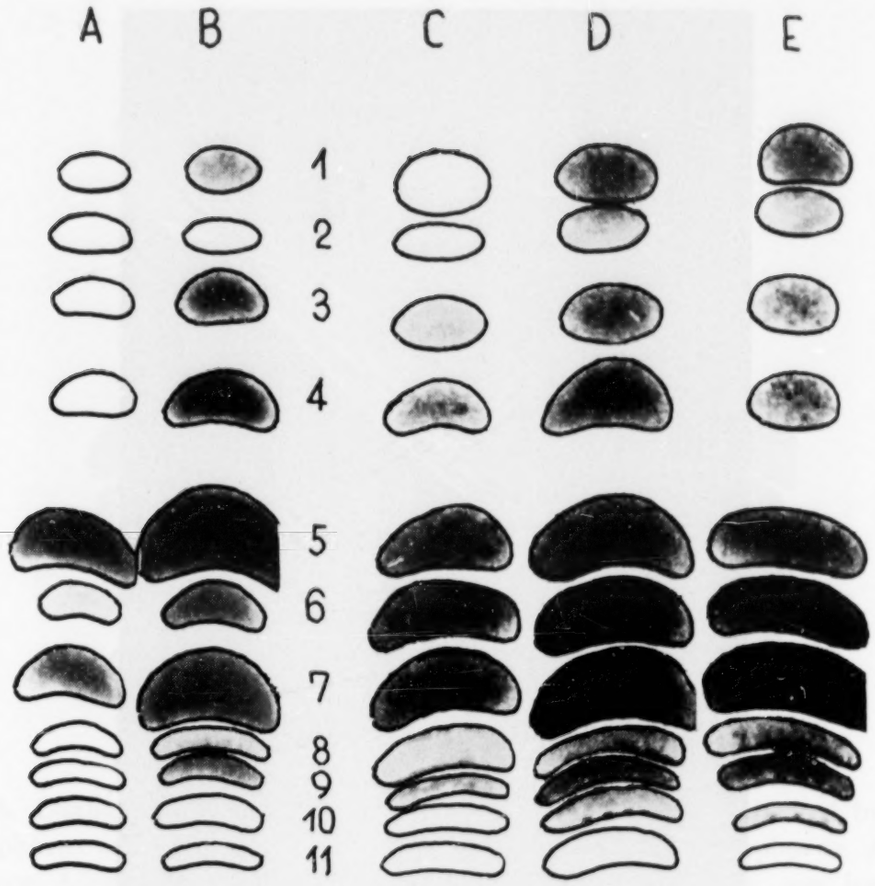


Fig. 4. Changes in free amino acids in the bleeding sap (A, B) and in the leaves (C, D, E) of rice.

A: healthy (control)
B: affected by low temperature
C: healthy (control)
D: affected by brusone
E: affected by physiological drought

1 = leucine or isoleucine
2 = phenylalanine
3 = valine
4 = γ-aminobutyric acid
5 = alanine
6 = glutamic acid
7 = glutamine + aspartic acid
8 = asparagine + arginine
9 = histidine
10 = unidentified
11 = cyst(e)ine

diseased tissues and in healthy tissues exposed to circumstances favouring disease development.

The accumulation of soluble nitrogen in the leaves is disadvantageous first of all because it might favour the establishment of parasites [20]. Indeed, the leaves of rice plants affected by brusone are attacked by a variety of parasitic micro-organisms, in addition to *Piricularia oryzae* Cav. (Fig. 5). It is worth mentioning, however,

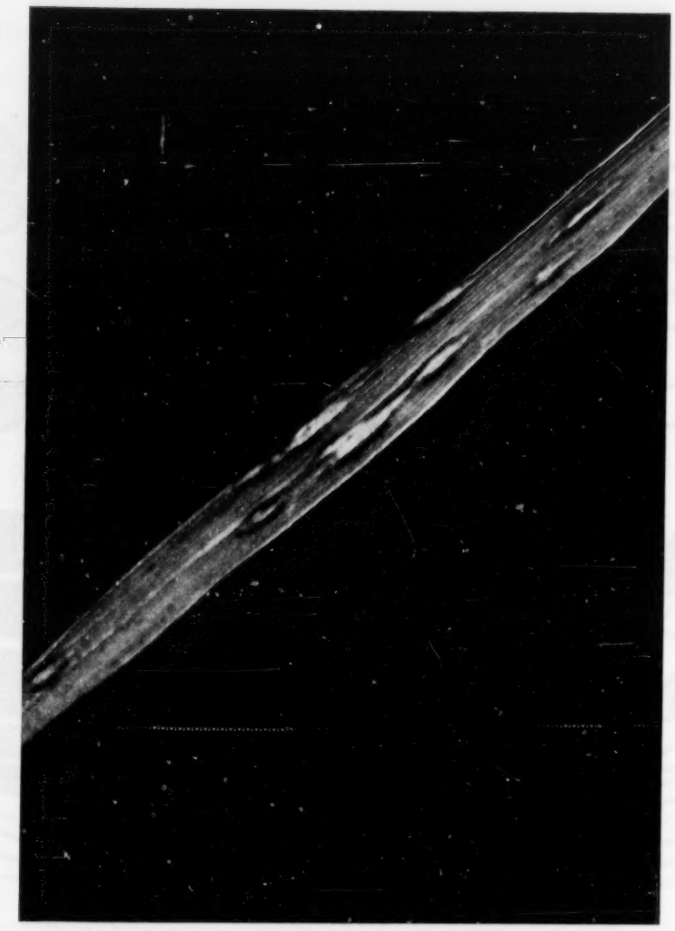


Fig. 5. Lesions due to *Piricularia oryzae* Cav. on rice leaves.

that the establishment of the parasites solely on the leaves causes only slight reduction of the crop.

In the so-called "brusone years" the effect of nitrogen in promoting disease development is quite apparent. Therefore, the greatest care ought to be taken in these years with the application of fertilizers. The appropriate ratio of elements contained by fertilizers is also important. It has been found for example that the topdressing by phosphate fertilizers (70 kg "superphosphate" per hectare) increases the amount of free amino acids found in the bleeding sap (Fig. 6). This seems to indicate that, in the presence of suitable amounts of phosphorus, the nitrogen assimilation by the root is more efficient. This statement is in accord with recent findings of Kursanov and co-workers indicating disturbances in the metabolism of plants supplied with heavy doses of nitrogen without adequate phosphorus supply [5].

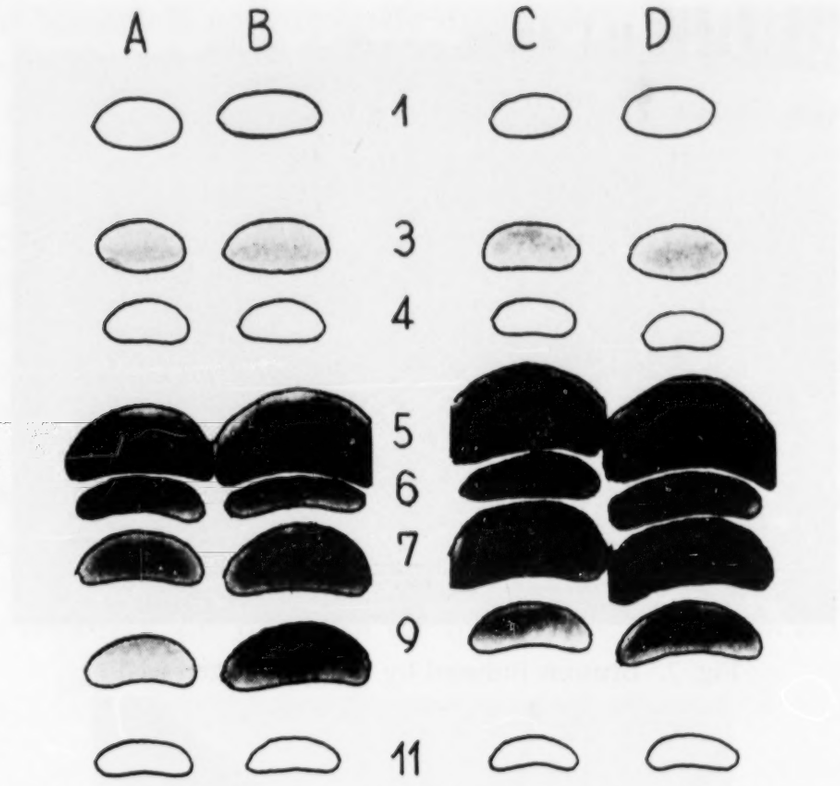


Fig. 6. Changes in free amino acids in the bleeding sap as affected by the phosphorus supply. A, B: control; C, D: treated with phosphorus. A, C: Precoce Allorio; B, D: Dunghan Shali. For chromatogram, see legends Fig. 4.

DISCUSSION

Opinions are divergent as to whether "brusone" is a parasitic or a physiological disease. It appears that several factors must be distinguished as parts of the brusone disease complex [2 19]. The effect of various factors promoting disease development might exert an influence on the symptoms and the extent of damage. Thus brusone includes a physiological condition of rice especially on nitrogen-rich plots which is apparently due to the accumulation of toxic substances (H_2S) in the soil under anaerobic conditions. The circumstances of H_2S accumulation and its role were discussed by Mitsui *et al.*[11], by Vámos [27] and by Yamada and Ota [29]. Scald-like spots appeared on the leaves and usually the presence of Piricularia oryzae could also be confirmed. Often whole groups of plants perish due to root-neck rot (Fig. 7). This form of the disease is well known in Italy and in other countries too [1 3 10 23 26]. This

Fig. 7. Brusone induced by heavy nitrogen feeding.

Fig. 8. Laying down of rice affected by nitrogen feeding.

type of brusone is not extremely dangerous as it is restricted to smaller areas. Physiological drought plays a very significant role in the induction of this form of the brusone. In "brusone years" the plants grown on soils rich in organic matter and supplied with heavy doses of nitrogen were lodged and this can also lead to heavy losses. In such cases mostly the nodes and leaf sheath are also injured resulting the destruction of the whole plant (Figs. 8 and 9).

Sometimes damage to the neck of the panicle can be observed and consequently the panicle dies. The physiological basis of this form of the disease is not fully understood. At first no symptoms can be seen although the panicle remains empty and erect (Fig. 10). This form of brusone is, therefore, often called "straight-head" disease. Characteristically the disease develops within a few days, but no sign of lesions due to *Piricularia oryzae* can be seen on the leaves. However, the tissues of the neck of the panicle (in a 1 to 3

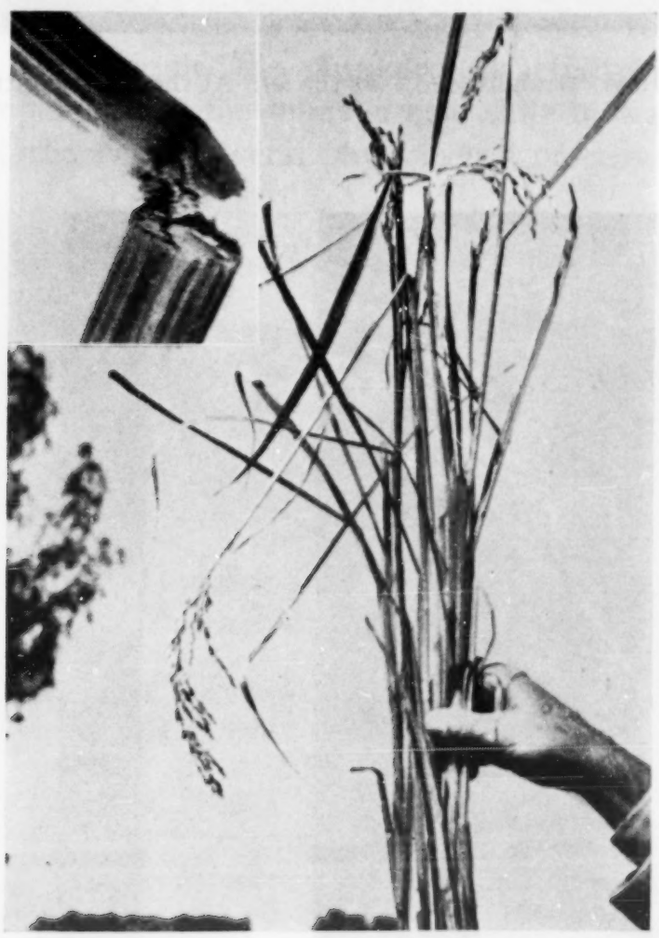


Fig. 9. Rice plant perished through brusone (node browning).

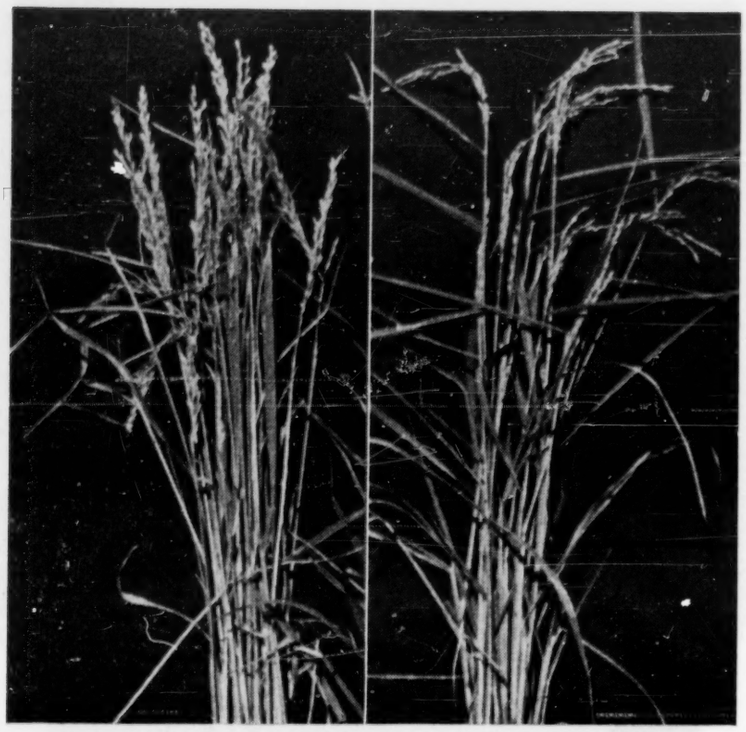


Fig. 10. Rice "straighthead" (at the *left*. At the *right*: control).

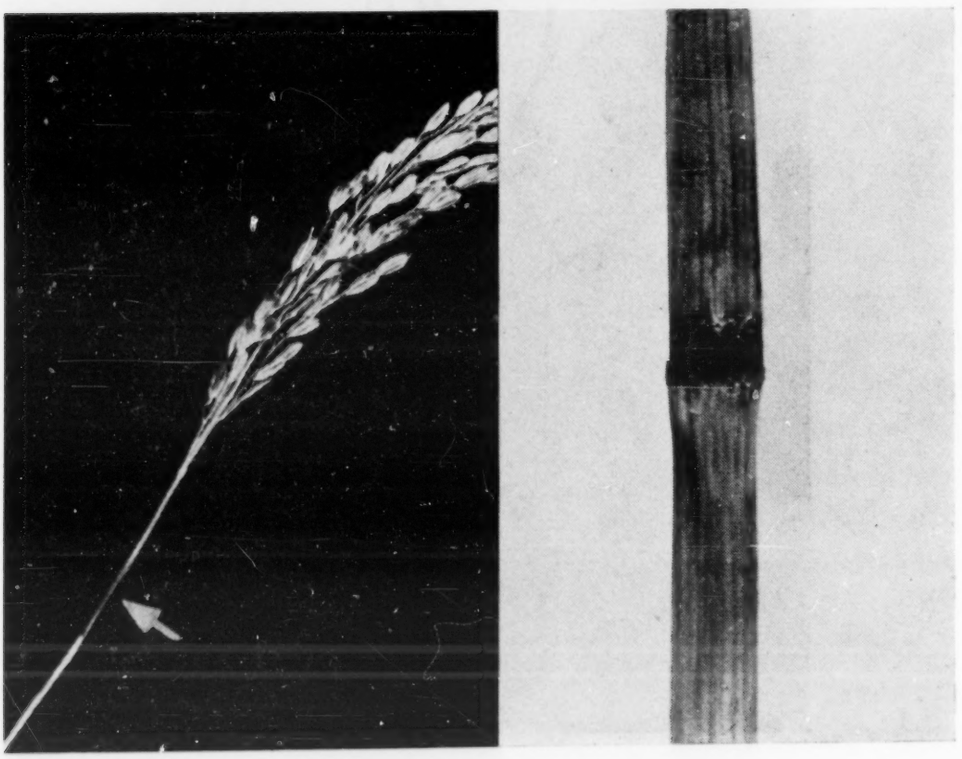


Fig. 11. "Neck disease" and node discoloration.

cm section) exhibit a brown discoloration and in the more advanced stages of the disease the nodes also show the same necrotic reaction (Fig. 11). This leads to a disfunction of the conductive elements and the water and nutrient supply of the panicle is restricted. This form of the disease causes the most considerable damages in Hungary. It is noteworthy that symptoms of this kind are sometimes similar to, but not identical with, those known as "fogdamage" which during flowering causes also sterility and consequently considerable damage.

The cause of the browning of the tissues is not known with certainity [21]. According to several authors the browning is due to parasitic attack [14 22]. It is possible that the browning of the neck of the panicle and that of the nodes has a physiological cause such as the oxidation of phenolic compounds. It is probable that disturbance of host plant metabolism associated with a strong accumulation of soluble nitrogen is a prerequisite of disease development. Factors such as excessive N-supply, anaerobic conditions in the soil, unfavourable weather *etc.* might induce such disturbances [4 18 24]. As a result, the physiological activity of the root system is impaired and the unfavourable shift in water balance leads to disturbances in several physiological processes.

SUMMARY

The factors which influence disease development greatly affect the nitrogen metabolism and water regime of the rice plant. Soluble nitrogen, mainly the amino acids, accumulates and this favours the establishment of parasitic micro-organisms. In diseased tissues the level of total-N and protein-N (per cent on dry weight) is higher than in the healthy ones. If the amount of protein-N is expressed on a total-N basis the diseased plants exhibit a lower protein content.

High nitrogen doses lead to disturbances of the growth processes and may be attributed to the accumulation of NH_3. The physiological activity of the root system of susceptible and resistant rice plants exhibits marked differences, particularly in the later developmental stages. Resistant varieties, due to their highly developed root system, yielded higher amounts of bleeding sap.

As a result of excessive nitrogen nutrition the root/shoot ratio is shifted in favour of the latter and consequently the normal balance of water regime and the mineral nutrition is disturbed. In the so called "brusone years" physiological drought is observed and this leads to serious losses. The resistant varieties are more or less tolerant to the deleterious effect of physiological drought.

ACKNOWLEDGEMENTS

The field experiments were carried out in rice fields of the Irrigation and Rice Cultivation Institutes (Szarvas, Kopáncs). Here we wish to thank to the Management for the technical helps.

Received August 9, 1961

REFERENCES

1 Baldacci, E., Cifferi, R., and Fabris, A., Ricerche ed esperienze sulle malattie del riso. VII. La concimazione azotata in relazione alla patologia del riso e alla sindrome indicata come lussuria. Ist. Botan. Univ. Lab. Crittogam. Pavia Atti **8**, 205–236 (1951).

2 Chiapelli, R., A rizs gombabetegségei (Fungus diseases of rice). (Hungarian) Öntözésügyi Közlemények Budapest **2**, 233–246 (1941).

3 Corbetta, G., Il „brusone" del riso. Il Riso **10**, 29–31 (1961).

4 Füleky, Gy., Nagymihály, F., A risz barnulásos megbetegedésének biokémiája (Biochemistry of the Blast of Rice). Agrokémiai Kutató Intézet Évkönyve (Budapest) **1**, 57–76 (1950).

5 Garber, K., Über die Physiologie der Einwirking von Ammoniakgasen auf die Pflanze. Landwirtsch. Versuchsstat. **123**, 277–344 (1935).

6 Grist, D. H., Rice. Longmans Green and Co. London Trd. Ed. (1959).

7 Kelley, O. J., Hunter, A. S., and Stergers, A. J., Determination of nitrogen, phosphorus, potassium, calcium and magnesium in plant tissue. Ind. and Eng. Chem. Anal. Ed. **18**, 319–322 (1946).

8 Kramer, P. J., Plant and Soil Water Relationships. New York (1949).

9 Kursanov, A., and Kulaeva, O., Le metabolisme des racines et l'assimilation d'ammoniac par les plants deficientes en phosphore. Agrochimica (Pisa) **3**, 29–38 (1958).

10 Mello, R. E. T., Observacoes sobre a brusone do arroz e seu controlle. O Biologico (Sao Paulo, Brasil) **25**, 218–222 (1960).

11 Mitsui, S., Aso, S., and Kumazawa, K., The nutrient uptake of rice plants as influenced by hydrogensulphide and butyric acid. Trans. V. Int. Congr. Soil. Sci. **2**, 364–368 (1954).

12 Mothes, K., Ammoniakentgiftung und Aminogruppenvorrat. Handbuch der Pflanzenphysiologie. VIII. Der Stickstoffumsatz. Springer, Berlin (1958).

13 Padwick, G. W., Manual of rice diseases. The Commonwealth Mycological Institute, Kew (1950).

14 Podhradszky, J., Der Krankheitskomplex der Reisbräune in Ungarn. Pflanzenschutzkongress, Berlin 1955, p. 183–196.

15 Polgár, S., Über den Zusammenhang der Reisbräune mit verschiedenen physiologischen Faktoren. Landwirtschaftl. Hochschule zu Debrecen (Ungarn) **3**, 35–54 (1959).

16 Ramiah, K., and Rao, M. B. V. N. ,Rice breeding and genetics. New Delhi (1953).

17 Reuter, G., Über den Stickstoffhaushalt der Betulaceen und anderer Laub- und Nadelhölzer. Flora **144**, 420–446 (1957).

18 Shirakura, N., Tsuchiya, T., and Tsuchiya, A., The change in the metabolic activity of the rice plant affected by cold water as viewed from its nitrogen and carbohydrate contents. Proc. Crop. Sci. Soc. Japan **28**, 25–27 (1959).

19 Simon, J., Wagner, R., Szepessy, I., Szepes, J., Zsoldos, F., Takács, F., and Kiss, I., Bruzone ankét (Conference on brusone). (Hungarian) Magyar Tud. Akad. Agrártud. Oszt. Közl. (Budapest) **18**, 207–265 (1960).

20 Suryanarayanan, S., Role of nitrogen in host susceptibility to *Piricularia oryzae* Cav. Curr. Sci. Bangalore **27**, 447–448 (1958).

21 Szepes, J., Histological examinations to determine the resistance of different rice varieties to blast. Acta Agron. Sci Hungary **9**, 137–154 (1959).

22 Szepessy, I., A legfontosabb rizsbetegségek megkülönböztetése (Differentiation of the most important rice diseases). Hungarian) Agrártudomány, Budapest **11**, 11–13 (1959).

23 Takahashi, J., Yanagisawa, M., Kono, M., Yazawa, F., and Yoshida, T., Studies on Nutrient Absorbtion by Crops. Rice Monograph, Japan (1955).

24 Takesima, H., Haneda, E., and Sato, T., Studies on effects of soil temperatures on rice plant growth. I. Effects of soil temperatures upon growth regulating substances and the metabolisms of carbohydrates and nitrogen. Bulletin of the Yamagata Univ. (Agr. Sci.) 3, 25–32 (1961).

25 Tanaka, A., Patnaik, S., and Abichandi, C. T., Studies on the nutrition of rice plant (*Oryza sativa* L.) Part I. Influence of nitrogen level on growth and nutrient uptake by rice plant (*O. sativa* var. *indica*). Proc. Ind. Acad. Sci. **47**, 140–154 (1958).

26 Thomas, K. M., A new paddy disease in Madras. Madras Agr. J. **29**, 34–36 (1931).

27 Vámos, R., "Bruzone" disease of rice in Hungary. Plant and Soil **11**, 65–77 (1959).

28 Wagner, R., Angaben zum Mikroklima der Reisfelder in Kopáncs. Acta Climatologica Szeged (Hungary) **1**, 3–27 (1959).

29 Yamada, N. and Ota, Y., Study on the respiration of crop Plants. VIII. Effect of hydrogen-sulfide and lower fatty acids on the respiration of root in rice plant. Proc. Crop. Sci. Soc. Japan **27**, 155–160 (1958).

30 Zsoldos, F., Effect of NH_4^+ on the growth of rice plants. Acta Bot. Sci. Hungary 1961 (in press).

Plant and Soil XVI, no 3 Juni 1962

AMINO ACIDS IN ROOT EXUDATES OF COTTON *

by Miss C. B. SULOCHANA

The University Botany Laboratory, Madras-5, India

INTRODUCTION

Preferential stimulation of amino acid requiring bacteria as the most characteristic rhizosphere effect has been repeatedly observed since the first report made by Lochhead and Thexton [12] in 1947. Although synthesis of one or more amino acids by metabolically active bacteria requiring only the simplest inorganic nutrients is believed to be an additional source (Payne *et al.*[15]), the chief source of a large spectrum of the preformed amino acids is admittedly the growing root. Exudations of various amino acids by roots of different plant species have been demonstrated under chosen conditions by many workers (Virtanen and Laine [19], Kandler [9], Winter[20], Katznelson *et al.*[10], Forsman [6], Parkinson [13], Andal *et al.*[1], Rovira [16]). It needs no re-emphasis that any attempt at the precise evaluation of root exudate is made difficult by the biological complexities existing in the rhizosphere and the physical nature of soil. To obtain samples of root exudates for chemical analyses, plants have to be grown under as normal a condition as feasible; it is also necessary to keep the varied substrate interferences comparably controlled. Main requirements and attendant limitations in such a study are, for instance, (a) plants have to be grown in substrate freed from microflora; maintenance of aseptic conditions for long periods being not normally feasible, the duration of plant growth under sterile conditions becomes limited; (b) sampling of root system *in toto* without injury to the roots is a necessity in order to avoid diffusion of cell contents into the sampling medium. This requirement can be met by liquid culture only, which in turn poses

* Part of Doctoral thesis, University of Madras.

two problems, *viz* whether plants in nutrient culture are physiologically similar to those growing in soil; secondly, the abnormal condition arising out of the influence of inhibitory metabolites that are known to be exuded from the roots in a sterilized liquid medium (Frenzel [7]). This anomaly could no doubt be overcome by addition of activated carbon to the medium (Eliasson [5]). While such a procedure would vouchsafe normal growth of plants, the doubt will remain about the possible adsorption, partially or wholly, of the specific metabolities under study. The likely interferences that might result by the inorganic nutrient solutes used will also have to be borne in mind. These considerations suggested the use of soil-water culture rather than a nutrient medium, provided the growth of plants are favourably comparable to those grown in soil. Accordingly, comparisons were made of growth of 2-, 3-, and 4-week-old cotton plants grown in garden soil in 4″ earthenware pots with those grown in soil–water culture (1 to 3g soil suspended in 30 ml distilled water contained in 100-ml Pyrex Erlenmeyer flask). Apparently the plants in soil-water culture looked normal and healthy (Plate 1). The differences in dry weight of shoots on per plant basis were *ca.* ± 7%. In the present study, this method of growing plants was adopted, and cotton field soils were used as nutrient substrate for the cotton plants. The object of the present investigation was to study the amino acid patterns of root exudates of diploid and amphidiploid strains of cotton by quantitative microbiological assay methods, with respect to distinctive soil types *viz* wilt free and wilt sick, and to compare the exudates under healthy and artificially inoculated (pathogen: *Fusarium vasinfectum* Atk.) conditions.

MATERIALS AND METHODS

Soils

Surface samples (0–6″) of soils from 16 random spots were collected from a cotton field in the Agricultural Research Station in Kovilpatti, Tirunelveli district, and from a private cotton field in Palladam, Coimbatore district in January 1955. Samples were throughly mixed, air dried, and passed through a 2-mm sieve prior to use. The abbreviations KPT and PLD are employed for Kovilpatti and Palladam respectively. KPT soil is Fusarium wilt-free and PLD soil has a wilt-sick history although the pathogen *F. vasinfectum* occurs in both soil zones (Zachariah [21], Venkata Ram [18], Sulochana, unpublished).

Seeds

Pure seeds of the following strains were used. All seeds were kindly supplied by the Cotton Specialist, Agricultural College and Research Institute, Coimbatore.

Diploid strains of *Gossypium arboreum* race *indicum* L.

1. Karunganni 2 (K 2). This strain was evolved at Kovilpatti in 1934–1935 and is a derivative from a triple hybrid between northerns, cernuum and coconadas (races *indicum* and *cernuum*). K 2 is widely cultivated in the Southern districts.

2. Karunganni 5 (K 5). This strain is a selection from a natural intervarietal hybrid between varieties *indicum* and *cernuum* evolved at the Cotton Breeding Station, Coimbatore, in 1947–1948. K 5 is adjudged more suitable for the central districts.

3. 6186.9: This is a selection from N. 14 (*indicum* × *cernuum* cross and is the latest strain released in 1958 for the entire karunganni zone in Southern India.

Amphidiploid strains of *Gossypium hirsutum* L.

1. Coimbatore 2 (Co 2) This is a pure-line selection from a bulk crop of Cambodia cotton grown in 1920–1921 in Cotton Breeding Station, Coimbatore. Co 2 was released in 1924–1925 and is cultivated in irrigated, red loam.

2. Madras Cambodia Uganda 1 (MCU 1) This strain is an intraspecific cross and is a selection from Strain Co 4 which is a cross between Co 2 and A 12 (Andrews 12 of South Africa). MCU 1 was evolved at the Cotton Breeding Station, Coimbatore in 1947–1948.

3. Mysore American V (MA V) This is a selection from a cross between Co 2 and a selection of U 4 (Uganda 4). MA V was released in 1945 at Mysore.

4. Laxmi. This strain is a selection from a cross between Gadag 101 and Co 2, and was evolved at Gadag in Karnatak.

Method adopted for growing plants in soil-water culture

Acid delinted seeds were surface sterilized with freshly prepared 0.1% $HgCl_2$ solution for 2 minutes, washed with several changes of sterile distilled water and germinated in sterilized, washed river sand. On the fifth day following sowing, the seedlings were carefully lifted after flooding the pots with distilled water. Lateral roots were removed under water and the primary roots were thoroughly washed free of all adhering sand particles with successive changes of sterile water. Seedlings (6 per flask) were transferred to 100-ml Pyrex flasks and held in position by an annular ring of cotton wool providing necessary aeration of the liquid substrate. The flasks containing 3 g of soil and 30 ml of distilled water were autoclaved at 20 lbs per sq in pressure for 30 minutes and cooled prior to transferring of seedlings under aseptic conditions. The flasks were covered with thick brown-paper wrappings

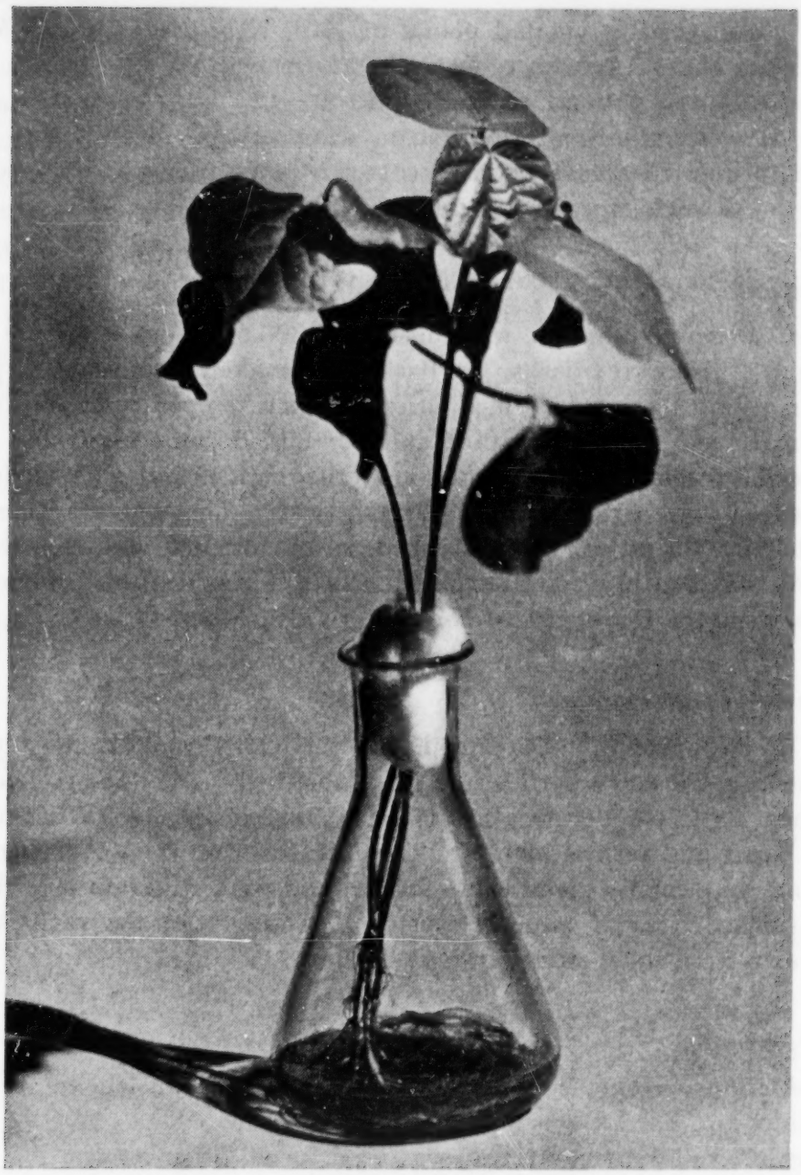


Plate 1. Twenty - day - old plants of *G. hirsutum* L. (strain - Laxmi) in soil-water culture.

to cut out the effect of light on root growth. The plants were maintained for 15 days in the laboratory greenhouse (24° to 31° C). The water level was maintained by addition of sterile distilled water on alternate days under aseptic conditions.

Design of the experiment

The following treatments were included.

1. KPT soil without plants – control.

2 to 8. Batches of healthy plants of K 2, K 5, 6186.9, Co 2, MCU 1, MA V, and Laxmi respectively grown in KPT soil.

9 to 14. Batches of inoculated plants of K 2, K 5, 6186.9, Co 2, MCU 1, MA V, and Laxmi respectively grown in KPT soil
15. PLD soil, without plants – control.
16–22. Healthy plants of the 7 cotton strains grown in PLD soil.
23–28. Inoculated plants of the 7 cotton strains grown in PLD soil.

Sixteen flasks were set up for each treatment.

Inoculation of seedlings

Fusarium vasinfectum Atk. was cultured in 300 ml of 0.8 *N* sucrose nitrate medium in 1-litre Pyrex flasks. The flasks were shaken periodically to prevent mat formation. After 7 days incubation at room temperature, the contents were centrifuged, the supernatant culture fluid decanted and the conidia and mycelial fragments resuspended in sterile distilled water. Centrifugation was repeated twice with fresh lots of sterile water. The contents were finally suspended in 200 ml of sterile distilled water. Washed seedlings were immersed in mycelial *cum* spore suspension for five minutes, and drained prior to transferring to the sterilized soil–water culture flasks.

Sampling of root exudates

After 15 days growth in the greenhouse, the plants were carefully removed after washing the roots with a fine jet of distilled water. The soil solutions from each flask (16 per treatment) were filtered through Whatman No. 1 filter paper and pooled together. The filtrates were then concentrated *in vacuo* and were finally made up to 250 ml and were stored in a refrigerator with a surface layer of sulfur-free toluene. Aliquots for the various assays were drawn from these stock sample solutions.

Test organisms

Lactobacillus arabinosus 17/5 was used in the assay of leucine, isoleucine and valine.

Leuconostoc mesenteroides P. 60 was used for all other assays.

These strains were kindly supplied by the Director, National Chemical Laboratories, Poona 7. Cultural details and assay methods described by Barton-Wright [2], were closely followed.

Assays were carried out in Pyrex test tubes (10 cm × 1 cm). Aliquots of 1.5 ml of double concentration basal medium were transferred to the test tubes, the standard amino acid solution and test samples added, the total volume in each tube was then adjusted to 3 ml with distilled water.

Test samples were assayed at levels of 0.75 and 1.5 ml per tube. The inoculated tubes were maintained at 36°C for 24 hours. At the end of the incubation period 2 ml of distilled water were added to each tube. The tubes were then steamed for 10 minutes, cooled and growth measured turbidimetrically in a Klett-Summerson photoelectric colorimeter using filter No. 66. In the turbidity measurements, calibrated colorimeter tubes were used, with the blank inoculated tubes (containing no added amino acid) set at 0.

Calculation

For the turbidity values of the standard series in each assay, a standard curve was drawn taking 2–log. of percentage transmission as ordinates and amino acid in μg as abscissae. From this graph, amino acid content corresponding to the optical density of each test tube was determined. The content for each test solution was calculated as the average of 5 tubes, the individuals of which did not differ from the average by more than 10%. Finally μg of amino acid was calculated per 250 ml of root exudate solution derived from 96 plants. Recovery tests were carried out to test the validity of each of the assays.

Results have been presented under five groups, namely: glutamic family, aspartic family, serine family, pyruvic family and aromatic family.

RESULTS

Free amino acids in KPT and PLD soils to the extent assayed are indicated in Table 1,

TABLE 1

Amino acids in KPT (wilt-free) and PLD (wilt-sick) soils in μg/g of soil

Amino acids	Soil	
	KPT	PLD
Glutamic family		
Arginine	2.25	2.71
Proline	25.00	29.79
Aspartic family		
Aspartic acid	0.0	0.0
Threonine	0.0	0.0
Isoleucine	0.0	0.0
Lysine	6.60	9.38
Serine family		
Serine	24.13	33.54
Glycine	4.06	9.10
Cystine	2.71	4.58
Pyruvic family		
Leucine	0.0	Trace
Valine	0.0	0.0
Aromatic family		
Tyrosine	2.71	4.58
Phenylalanine	0.0	0.0
Total:	66.46	93.68

Both the soils were found to contain seven of the 13 amino acids assayed. PLD soil showed higher amounts of these amino acids *viz.* arginine, proline, lysine, serine, glycine, cystine and tyrosine. In

addition, trace of leucine was detected in PLD soil. Aspartic acid, threonine, isoleucine, valine, leucine, and phenylalanine were absent or were below the levels of detection by the test organisms employed.

Table 2 shows the relative amounts of arginine and proline of the glutamic family in the cotton-root exudates. Arginine and proline

TABLE 2

Amino acids of glutamic family in root exudates of cotton *

Soil	Strain		Amino acid μg/250 ml	
	Diploid	Amphidiploid	Arginine	Proline
KPT	Control-unplanted		108	1200
	K 2		130(98)	2240(1430)
	K 5		160(140)	1860(1670)
	6186.9		135(110)	2200(1570)
		Co 2	168(x)	1390 (x)
		MCU 1	220(125)	1880(1240)
		MA V	165(115)	1620(1200)
		Laxmi	140(130)	1880(1190)
PLD	Control-unplanted		130	1430
	K 2		145(110)	2220(1080)
	K 5		196(130)	2200(1480)
	6186.9		170(67)	3850(1770)
		Co 2	115(x)	1720 (x)
		MCU 1	140(120)	2200(1680)
		MA V	110(48)	1760(1650)
		Laxmi	150(138)	1930(1640)

* Figures in parenthesis indicate values for inoculated series.
x Samples not assayed.

were found to occur in both KPT and PLD soils, the latter having slightly higher concentrations of both these amino acids. Exudates of all strains showed increased concentrations of these in both soils. Diploid strains grown in PLD soil showed higher amounts of arginine than those grown in KPT soil. Reverse was the case in the exudates of amphidiploid strains. Under inoculated condition, decrease in the amounts of arginine was marked. The levels approximated to the control soil level and were in fact lower than the soil value in some cases in PLD as well as KPT soil.

Amounts of proline showed considerable increase over the soil control in the exudates of all the strains, the values being higher in the case of diploid strains in both the soils. Plants grown in PLD soil appeared to exude higher amounts of proline than those grown

in KPT soil. Inoculated plants showed lower amounts of proline, and the difference compared to the respective healthy controls was variable in the case of each of the strain.

TABLE 3

Amino acids of the aspartic family in the root exudates of cotton *

Soil	Strain		Amino acid μg/250 ml			
	Diploid	Amphidiploid	Aspartic acid	Threonine	Isoleucine	Lysine
KPT	Control		0	0	0	320
	K 2		1200(0)	0	0	1480(240)
	K 5		0(0)	0	0	1440(510)
	6186.9		1200(300)	0	0	1440(160)
		Co 2	0(x)	0	0	640(x)
		MCU 1	1300(400)	300(0)	0	320(0)
		MA V	600(200)	0	0	800(400)
		Laxmi	0(0)	0	0	560(0)
PLD	Control		0	0	0	450
	K 2		900(0)	0	0	560(240)
	K 5		1300(380)	0	0	640(0)
	6186.9		1420(360)	0	0	990(100)
		Co 2	0(x)	0	0	640(x)
		MCU 1	800(320)	300(0)	0	240(160)
		MA V	1200(380)	0	0	880(160)
		Laxmi	500(0)	0	0	440(320)

* Figures in parenthesis indicate values for inoculated series.
x Samples not assayed.

Table 3 shows the relative amounts of aspartic acid, threonine, isoleucine and lysine of the aspartic family in the cotton-root exudates. Aspartic acid, threonine and isoleucine were not detected in either of the unplanted control soils. Lysine occurred in both soils, amount being higher in KPT soil.

In the exudates of healthy K 5, Co 2 and Laxmi grown in KPT soil, and in that of Co 2 grown in PLD soil, aspartic acid was not found. Considerably high amounts of aspartic acid were found in the case of the other strains in both the soils. In the inoculated series, marked reduction in the amounts of aspartic acid was found in the case of 6186.9, MCU 1, and MA V in KPT soil and in the case of K 5, 6186.9, MCU 1, and MA V in PLD soil. In all the other strains, aspartic acid was below detection level.

Threonine could be detected only in the case of healthy MCU 1 in KPT as well as PLD soils. Isoleucine could not be detected in exudates of any of the cotton strains tested.

Lysine was found in comparatively high amounts in the exudates of diploid strains grown in KPT soil; corresponding values for each strain grown in PLD soil were much lower. The values for the amphidiploid strains were nearly alike in both the soils.

In the inoculated series, the amounts of lysine detected were markedly lower compared to the respective healthy controls, and was in fact absent in the case of MCU 1 and Laxmi grown in KPT soil and in the case of K 5 in PLD soil.

TABLE 4

Amino acids of the serine family in the root exudates of cotton *

Soil	Strain		Amino acid μg/250 ml		
	Diploid	Amphidiploid	Serine	Glycine	Cystine
KPT	Control		1110	195	0
	K 2		2400(1700)	740(700)	345(0)
	K 5		1650(1530)	610(280)	580(0)
	6186.9		1910(1800)	390(305)	576(0)
		Co 2	1380(x)	430(x)	0(x)
		MCU 1	1920(1520)	510(260)	535(280)
		MA V	1570(1360)	640(430)	0(0)
		Laxmi	1930(1050)	330(305)	0(0)
PLD	Control		1610	437	0
	K 2		2020(2010)	690(650)	0(0)
	K 5		2240(1530)	685(620)	328(0)
	6186.9		2040(1790)	520(350)	637(0)
		Co 2	1740(x)	480(x)	0(x)
		MCU 1	2030(1680)	830(780)	721(335)
		MA V	1840(1750)	720(650)	465(430)
		Laxmi	2240(2020)	625(590)	625(510)

* Figures in parenthesis indicate values for inoculated series.
x Samples not assayed.

Table 4 shows the relative amounts of serine, glycine, cystine of the serine family in the root exudates of cotton. Serine and glycine were found in both the soils, the levels being somewhat higher in PLD soil.

Appreciably high amounts of serine were found in the exudates of all the strains grown in both the soils. The amounts of serine in the inoculated series were only slightly lower than those of healthy controls.

Glycine was found in the exudates of all the cotton strains tested. Amounts of glycine in the exudates of healthy plants of all the

strains excepting K2 were greater in PLD soil than KPT soil. In the inoculated series, the amounts of glycine were slightly lower in all except K 5 and MCU 1 grown in KPT soil which showed reduction approximating to half of the healthy control values.

Cystine was found in higher amounts in diploid strains grown in KPT than in those grown in PLD soil. Although cystine could not be detected in the amphidiploid strains except MCU 1 in KPT soil, it was interesting that cystine levels became markedly high in PLD soil in all except Co 2. Even in the inoculated series cystine in appreciable levels was found in MCU 1, MA V, and Laxmi in PLD soil. Cystine was not present in all the other strains except MCU 1 in inoculated KPT soil.

TABLE 5

Amino acids of the pyruvic family in the root exudates of cotton *

Soil	Strain		Amino acid μg/250 ml	
	Diploid	Amphidiploid	Leucine	Valine
KPT	Control		—	—
	K 2		270(130)	—
	K 5		280(100)	—
	6186.9		410(200)	—
		Co 2	370(x)	—
		MCU	380(360)	—
		MA V	420(370)	—
		Laxmi	350(350)	—
PLD	Control		Trace	—
	K 2		520(150)	—
	K 5		540(170)	—
	6186.9		730(240)	—
		Co 2	420(x)	—
		MCU 1	470(390)	—
		MA V	390(360)	—
		Laxmi	410(380)	—

* Figures in parenthesis indicate values for inoculated series.

x Samples not assayed.

Table 5 shows the presence/absence of leucine and valine of pyruvic family in the root exudates of cotton.

Only a trace of leucine could be detected in unplanted PLD control soil. In general, amounts of leucine were higher in exudates of strains grown in PLD than in those grown in KPT soil, particularly in the case of diploid strains. In the inoculated series, the levels

of leucine were markedly lower in the case of diploid strains and only slightly lower in the case of amphidiploid strains.

Valine was not detected in any of the strains studied.

TABLE 6

Amino acids of the aromatic family in the root exudates of cotton *

Soil	Strain		Amino acid μg/250 ml	
	Diploid	Amphidiploid	Tyrosine	Phenylalanine
KPT	Control		130	0
	K 2		1600(1420)	1100(400)
	K 5		1610(905)	400(0)
	6186.9		1801(1600)	600(550)
		Co 2	1960(x)	300(x)
		MCU 1	1958(1510)	600(540)
		MA V	1805(1605)	0(0)
		Laxmi	1500(1500)	750(400)
PLD	Control		220	0
	K 2		1600(1505)	1250(900)
	K 5		1250(930)	500(0)
	6186.9		1608(1460)	800(750)
		Co 2	1900(x)	450(x)
		MCU 1	2305(2050)	1550(1400)
		MA V	1680(1180)	450(450)
		Laxmi	1915(1305)	400(0)

* Figures in parenthesis indicate values for inoculated series.
x Samples not assayed.

Table 6 shows the relative occurrence of tyrosine and phenylalanine of the aromatic family in the cotton-root exudates. Tyrosine was found to occur in appreciably high levels in the exudates of all the strains in both KPT and PLD soils. Tyrosine was found in the exudates of inoculated plants as well, though in comparatively lower amounts.

Phenylalanine was not found in either of the soils but was found in the exudates of all the strains except that of MA V grown in KPT soil. In the exudates of inoculated plants, the levels of phenylalanine were markedly lower than the respective healthy controls in the case of K 2, 6186.9, MCU 1, and Laxmi in KPT soil and in the case of K 2, 6186.9, MCU 1 and MA V in PLD soil. In all other cases no phenylalanine could be detected.

Table 7 shows the total amounts of amino acids estimated in the

TABLE 7

Total amino acids in root exudates of cotton * μg/250 ml

Cotton strain	KPT Soil		PLD Soil	
	Treatment			
	Healthy	Inoculated	Healthy	Inoculated
Diploid				
K 2	8442 (10)	2995 (8)	5828 (9)	2368 (8)
K 5	5527 (9)	3072 (7)	5602 (10)	963 (7)
6186.9	8589 (10)	2532 (9)	8488 (10)	2610 (9)
Amphidiploid				
Co 2	3575 (7)	**	3188 (8)	**
MCU 1	6860 (11)	4172 (9)	7309 (11)	4638 (10)
MA V	4557 (8)	2617 (8)	5218 (10)	2831 (10)
Laxmi	4377 (8)	1862 (7)	4958 (10)	2626 (8)

* Figures in parenthesis indicate number of amino acids.
** Samples not assayed.

root exudates of cotton by the method employed and the number of amino acids present in each case in parenthesis.

Except in the case of K 2 and MCU 1 in all the other strains more number of amino acids were found in the exudates of healthy plants grown in PLD soil than in those grown in KPT soil. The total amounts were also higher in PLD series than in KPT series. Diploid strains on inoculation showed a greater reduction in the quantities of amino acids exuded.

DISCUSSION

Determination of free amino acids in soils has been a difficult problem owing to the extremely small quantities present and because of sampling difficulties. Bremner [3], and Sowden and Parker [17], were unable to detect free amino acids in soils by the methods they employed. Dadd *et al.*[4], reported small quantities of amino acids in certain organic soils. By concentrating soil leachates by freezedrying, Payne *et al.*[14] reported chromatographic detection of free amino acids which were not detectable when concentration was effected *in vacuo* by mild heat. Fries and Forsman [8] were the first to report estimation of amino acids in root exudates employing a microbiological assay technique. In the present study, use of *Lactobacillus arabinosus* 17/5 and *Leuconostoc mesenteroides* P. 60 enabled determination of several amino acids in samples obtained

from small quantities of soil. In the two cotton soils compared, the same amino acids were detected in both; the amounts were invariably higher in the wilt-sick cotton soil (PLD). Arginine, cystine and tyrosine were present in low levels; amounts of lysine and glycine were slightly higher but proline and serine occurred in appreciably high amounts. Leucine was absent in KPT soil and in PLD soil it occurred in traces. On comparing the total amino acids the wilt-free soil (KPT) was found to contain about two-thirds of what was recorded for the wilt-sick soil.

In the cotton root exudates, in addition to increased amounts of those amino acids that were present in the soils tested, aspartic acid, threonine (in one case), phenylalanine and leucine which were not detectable in the soil substrate, were found to occur.

In general, markedly high amounts of proline, serine, aspartic acid, lysine, and tyrosine were detected in the cotton-root exudates, followed by phenylalanine, glycine, leucine, cystine, and arginine in descending order. Threonine occurred in only one case *i.e.* MCU 1.

On the basis of total amino acids, the diploid strains were found to exude greater amounts than the amphidiploid strains in both the soils under comparable conditions. Between the two soils, amino acids in exudates of plants grown in PLD were higher except in the case of one diploid strain.

In the inoculated series, amino acids in the exudates were markedly lower in all the diploid strains in both the soils compared to the healthy controls. In the case of inoculated amphidiploid strains also, there was reduction in the amounts of amino acids present, but to a lesser extent. Reduction was more marked in the amounts of arginine, aspartic acid, lysine, and phenylalanine. In the case of glycine and leucine, the differences were marked in some and slight in some other strains. In the case of proline and tyrosine, the differences between the healthy and the inoculated varied from strain to strain.

The effect of soil types on the root exudates of plants is clear from the data in Table 7. The effects might be due ro nutrient influence of the soils on the host physiology. The variations in the physical nature of the two soils may also influence differently the binding of amino acids exuded.

In view of an earlier report on the role of cystine in the mechanism of resistance to cotton wilt (Lakshminarayanan [11]), one obser-

vation of interest is the variable occurrence of cystine in the cotton-root exudates. Higher amounts of cystine were found in the exudates of diploid strains grown in wilt-free KPT soil; cystine was present in the exudates of amphidiploid strains grown in wilt-sick soil even in the inoculated series. These observations are of significance in that presence of cystine appears to be associated with increased resistance to wilt. The exudates of inoculated diploid strains on the contrary did not contain cystine when grown in the wilt-sick soil. Further work will be necessary before the full significance of this point could be correctly understood.

SUMMARY

Cotton-field soils from a wilt-free zone (KPT) and from a wilt-sick zone (PLD), and root exudates of diploid and amphidiploid cotton strains grown in KPT and PLD soils were analyzed for 13 free amino acids employing microbiological assay techniques. Test organisms used were *Lactobacillus arabinosus* 17/5 and *Leuconostoc mesenteroides* P. 60.

Arginine, proline, lysine, serine, glycine, cystine, and tyrosine occurred in both the soils; amounts of these were higher in PLD soil than in KPT soil.

Seven to eleven amino acids were found in the root exudates of cotton. Aspartic acid, threonine (in one), phenylalanine and leucine were found in root exudates but not in the control soils. Diploid strains were found to exude greater amounts of amino acids than the amphidiploid strains. Comparing the effect of the two soils tested, it was found that amino acids in exudates of plants grown in PLD soil were higher except in the case of one diploid strain.

In the inoculated series, amino acids in the exudates were markedly lower than the respective healthy controls in the diploid strains. In the exudates of amphidiploid strains also, amino acid contents were reduced but to a lesser extent.

Significance of occurrence of cystine in the exudates of some strains is indicated.

ACKNOWLEDGEMENTS

The author is deeply indebted to Prof. T. S. Sadasivan D. Sc. (Lond.), F.N.I. for his keen interest and guidance in this work.

Received September 6, 1961

REFERENCES

1 Andal, R., Bhuvaneswari, K., and Subba-Rao, N.S., Root exudates of paddy. Nature, London **178**, 1063 (1956).

2 Barton-Wright, E. C., The Microbilogical Assay of the Vitamin B-Complex and Amino Acids. Sir Isaac Pitman and Sons Ltd., London (1952).

3 Bremner, J. M., The amino-acid composition of the protein material in soil. Biochem. J. **47**, 538–542 (1950).

4 Dadd, C. C., Fowden, L., and Pearsall, W. H., An investigation of the free amino-acids in organic soil types using paper partition chromatography. J. Soil Sci. **4**, 69–71 (1953).

5 Eliasson, L., Inhibition of the growth of wheat roots in nutrient solutions by substances exuded from the roots. Kungl. Lantbrnkshogskolans Annaler **25**, 285–293 (1959).

*6 Forsman, B., Thesis, Institute of Physiological Botany, Univ. of Uppsala, Sweden (1955).

7 Frenzel, B., Zur Abgabe von Amino-säuren and Amiden an das Nährmedium durch die Wurzeln von *Helianthus annus* L. Planta **49**, 210 (1957).

8 Fries, M. and Forsman, B., Quantitative determination of certain nucleic acid derivatives in pea root exudate. Physiol. Plantarum, **4**, 410–420 (1951).

9 Kandler, O., Papierchromatographischer Nachweis der Amino-säureausscheidung *in vitro* Kultivierter Maiswurzeln. Z. Naturf. **66**, 437–445 (1951).

10 Katznelson, H., Rouatt, J. W., and Payne, T. M. B., Liberation of amino acids by plant roots in relation to desiccation. Nature, London **174**, 1110 (1954).

11 Lakshminarayanan, K., Role of cystine chelation in the mechanism of Fusarium wilt of cotton. Experientia **11**, 388 (1955).

12 Lochhead, A. G., and Thexton, R. H., Qualitative studies of soil microorganisms, VII. The 'rhizosphere effect' in relation to the amino acid nutrition of bacteria. Can. J. Research, C **25**, 20–26 (1947).

13 Parkinson, D., Liberation of amino acids by oat seedlings. Nature, London **176**, 35–36 (1955).

14 Payne, T. M. B., Rouatt, J. W., and Katznelson, H., Detection of free amino acids in soil. Soil Sci. **82**, 521–524 (1956).

15 Payne, T. M. B., Rouatt, J. W., and Lochhead, A. G., The relationship between soil bacteria with simple nutritional requirements and those requiring amino acids. Can. J. Microbiol. **3**, 73–80 (1957).

16 Rovira, A. D., Plant root excretions in relation to the rhizosphere effect 1. The nature of root exudates from oats and peas. Plant and Soil **7**, 178–194 (1956).

17 Sowden, F. J. and Parker, D. I., Amino nitrogen of soils and certain fractions isolated from them. Soil Sci. **76**, 201–208 (1953).

18 Venkata Ram, C. S., Fusaria of Southern Indian Soils Doctoral Thesis. Univ. of Madras. (1954).

19 Virtanèn, A. I. and Laine, T., Chemical nature of the amino acids excreted by leguminous root nodules. Nature, London. **136**, 756–757 (1935).

20 Winter, G., Humus und Pflanze: Die Wechselwirkung von Pflanze und Boden im Lichte neuester Forschungen. Orion **17**, 377–381 (1952).

21 Zachariah, A. T., Micro-ecology of soils of cultivated fields of South India with special reference to the occurrence and physiology of Fusaria. Doctoral Thesis, Univ. of Madras. (1949).

* Original not seen.

Plant and Soil XVI, no 3 June 1962

B-VITAMINS IN ROOT EXUDATES OF COTTON *

by Miss C. B. SULOCHANA

The University Botany Laboratory, Madras-5, India

INTRODUCTION

It is generally accepted that most of the B-vitamins are normally present in fertile soils [4 8 9]. Presence of these growth factors were at first attributed to three sources: synthesis by micro-organisms [6], decomposition of animal and plant tissues containing vitamins [10 11], and exudation from plant roots. More recently it has been suggested that exudation from roots is not of significance in the stimulation of vitamin-requiring bacteria in the rhizosphere (see Lochhead [5]). Although it is difficult to estimate vitamins in a complex medium such as soil, attempts have been made to demonstrate exudation of vitamins by roots of different plants by Loehwing [7], West [13], Wilson [14], Winter [15], and Bhuvaneswari and Sulochana [2]. Stimulation of growth of mycorrhizal fungi by root extracts and exudates have also been observed (see Harley [3]). At least in two instances where reliable test organisms were used for assay [13 2], direct evidences were available to indicate qualitatively that vitamins could be exuded by roots of growing plants. Perhaps the amounts exuded may not be considerable compared to the other microbial sources in soil. With a view to obtain more precise information on this aspect, it was planned to carry out quantitative microbiological assays for vitamins with aliquots of the same batch of cotton root exudate samples, amino acid assays of which were earlier reported [12]. X-Ray mutants of *Neurospora crassa* and *N. sitophila*, well known for their sensitivity, specificity, and stability, were used as the test organisms.

* Part of Doctoral thesis, University of Madras.

REFERENCES

1 Andal, R., Bhuvaneswari, K., and Subba-Rao, N.S., Root exudates of paddy. Nature, London **178**, 1063 (1956).

2 Barton-Wright, E. C., The Microbilogical Assay of the Vitamin B-Complex and Amino Acids. Sir Isaac Pitman and Sons Ltd., London (1952).

3 Bremner, J. M., The amino-acid composition of the protein material in soil. Biochem. J. **47**, 538–542 (1950).

4 Dadd, C. C., Fowden, L., and Pearsall, W. H., An investigation of the free amino-acids in organic soil types using paper partition chromatography. J. Soil Sci. **4**, 69–71 (1953).

5 Eliasson, L., Inhibition of the growth of wheat roots in nutrient solutions by substances exuded from the roots. Kungl. Lantbrnkshogskolans Annaler **25**, 285–293 (1959).

*6 Forsman, B., Thesis, Institute of Physiological Botany, Univ. of Uppsala, Sweden (1955).

7 Frenzel, B., Zur Abgabe von Amino-säuren and Amiden an das Nährmedium durch die Wurzeln von *Helianthus annus* L. Planta **49**, 210 (1957).

8 Fries, M. and Forsman, B., Quantitative determination of certain nucleic acid derivatives in pea root exudate. Physiol. Plantarum, **4**, 410–420 (1951).

9 Kandler, O., Papierchromatographischer Nachweis der Amino-säureausscheidung *in vitro* Kultivierter Maiswurzeln. Z. Naturf. **66**, 437–445 (1951).

10 Katznelson, H., Rouatt, J. W., and Payne, T. M. B., Liberation of amino acids by plant roots in relation to desiccation. Nature, London **174**, 1110 (1954).

11 Lakshminarayanan, K., Role of cystine chelation in the mechanism of Fusarium wilt of cotton. Experientia **11**, 388 (1955).

12 Lochhead, A. G., and Thexton, R. H., Qualitative studies of soil microorganisms, VII. The 'rhizosphere effect' in relation to the amino acid nutrition of bacteria. Can. J. Research, C **25**, 20–26 (1947).

13 Parkinson, D., Liberation of amino acids by oat seedlings. Nature, London **176**, 35–36 (1955).

14 Payne, T. M. B., Rouatt, J. W., and Katznelson, H., Detection of free amino acids in soil. Soil Sci. **82**, 521–524 (1956).

15 Payne, T. M. B., Rouatt, J. W., and Lochhead, A. G., The relationship between soil bacteria with simple nutritional requirements and those requiring amino acids. Can. J. Microbiol. **3**, 73–80 (1957).

16 Rovira, A. D., Plant root excretions in relation to the rhizosphere effect 1. The nature of root exudates from oats and peas. Plant and Soil **7**, 178–194 (1956).

17 Sowden, F. J. and Parker, D. I., Amino nitrogen of soils and certain fractions isolated from them. Soil Sci. **76**, 201–208 (1953).

18 Venkata Ram, C. S., Fusaria of Southern Indian Soils Doctoral Thesis. Univ. of Madras. (1954).

19 Virtanèn, A. I. and Laine, T., Chemical nature of the amino acids excreted by leguminous root nodules. Nature, London. **136**, 756–757 (1935).

20 Winter, G., Humus und Pflanze: Die Wechselwirkung von Pflanze und Boden im Lichte neuester Forschungen. Orion **17**, 377–381 (1952).

21 Zachariah, A. T., Micro-ecology of soils of cultivated fields of South India with special reference to the occurrence and physiology of Fusaria. Doctoral Thesis, Univ. of Madras. (1949).

* Original not seen.

23

Plant and Soil XVI, no 3 June 1962

B-VITAMINS IN ROOT EXUDATES OF COTTON *

by Miss C. B. SULOCHANA

The University Botany Laboratory, Madras-5, India

INTRODUCTION

It is generally accepted that most of the B-vitamins are normally present in fertile soils [4 8 9]. Presence of these growth factors were at first attributed to three sources: synthesis by micro-organisms [6], decomposition of animal and plant tissues containing vitamins [10 11], and exudation from plant roots. More recently it has been suggested that exudation from roots is not of significance in the stimulation of vitamin-requiring bacteria in the rhizosphere (see Lochhead [5]). Although it is difficult to estimate vitamins in a complex medium such as soil, attempts have been made to demonstrate exudation of vitamins by roots of different plants by Loehwing [7], West [13], Wilson [14], Winter [15], and Bhuvaneswari and Sulochana [2]. Stimulation of growth of mycorrhizal fungi by root extracts and exudates have also been observed (see Harley [3]). At least in two instances where reliable test organisms were used for assay [13 2], direct evidences were available to indicate qualitatively that vitamins could be exuded by roots of growing plants. Perhaps the amounts exuded may not be considerable compared to the other microbial sources in soil. With a view to obtain more precise information on this aspect, it was planned to carry out quantitative microbiological assays for vitamins with aliquots of the same batch of cotton root exudate samples, amino acid assays of which were earlier reported [12]. X-Ray mutants of *Neurospora crassa* and *N. sitophila*, well known for their sensitivity, specificity, and stability, were used as the test organisms.

* Part of Doctoral thesis, University of Madras.

MATERIALS AMD NETHODS

Soils

Fusarium wilt-free KPT and wilt-sick PLD cotton soils were used.

Cotton strains

Diploid strains: K 2, K 5 and 6186.9.

Amphidiploid strains: Co 2, MCU 1, MA V and Laxmi. Root exudate samples were drawn from the same stocks reported previously (Sulochana [12]).

Test organisms

X-ray mutants 1633, 17084, 34486, and 37401 of *Neurospora crassa* were used for *p*-aminobenzoic acid, thiamine, biotin and choline, and inositol assay respectively. Mutant 299 of *N. sitophila* was used for pyridoxine assay.

Assay

Assay methods and all other cultural procedures described by Barton-Wright [1], were strictly adhered to.

Standards in duplicates at six levels for each vitamin were run initially to check on the sensitivity of the mutants. Samples were assayed at the levels of 2.5, 5.0, and 10 ml in triplicates and the standard series were repeated for every assay. Assays were carried out in 100-ml Pyrex Erlenmeyer flasks and the final volume of medium in each flask was 20 ml. The values were calculated to 250 ml of the stock sample solutions as in the previous study. Recovery tests were carried out for every series.

RESULTS AND DISCUSSION

Table 1 shows the contents of thiamine and biotin in the root exudates of cotton. Thiamine was detected in low amounts in PLD (wilt-sick) soil only. In the root exudates thiamine was recorded in higher levels in the case of diploid strains; particularly high were the values for the strains K 2 and 6186.9. In the inoculated series, thiamine contents were uniformly low in both diploid and amphidiploid strains of cotton.

Biotin was detected only in traces in KPT and PLD soils. Biotin was present in appreciable quantities in the exudates of all the strains. The amounts were higher in the exudates in the case of diploid strains, especially in those grown in PLD soil. Biotin was present in the exudates of inoculated plants of all the strains but the amounts were lower compared to the respective healthy controls.

TABLE 1

Thiamine and biotin contents of root exudates of cotton *

Soil	Strain		Vitamin μg/250 ml	
	Diploid	Amphidiploid	Thiamine	Biotin
KPT	Control		0	trace
	K 2		16.25(0.50)	8.75(3.75)
	K 5		2.50(1.25)	7.50(4.80)
	6186.9		25.00(1.35)	8.89(5.00)
		Co 2	1.68 (x)	2.00 (x)
		MCU 1	2.00(0.55)	8.12(5.20)
		MA V	2.36(0.86)	5.25(5.00)
		Laxmi	2.00(0.25)	3.75(3.75)
PLD	Control		0.32	trace
	K 2		12.50(1.25)	15.00(5.00)
	K 5		5.20(2.25)	12.50(6.25)
	6186.9		18.75(0.36)	10.00(4.00)
		Co 2	1.27 (x)	5.00 (x)
		MCU 1	2.05(0.32)	6.25(2.75)
		MA V	2.25(0.32)	9.00(4.25)
		Laxmi	2.08(0.25)	4.94(3.75)

* Figures in parenthesis indicate values for inoculated series.
x Samples not assayed.

TABLE 2

Pyridoxine and *p*-aminobenzoic acid contents of root exudates of cotton *

Soil	Strain		Vitamin μg/250 ml	
	Diploid	Amphidiploid	Pyrodixine	*p*-Aminobenzoic acid
KPT	Control		8.0	0.25
	K 2		13.0(10.0)	3.51(1.38)
	K 5		15.0(10.0)	1.53(1.23)
	6186.9		13.5(9.0)	7.55(1.53)
		Co 2	10.5 (x)	1.48 (x)
		MCU 1	13.2(12.0)	1.75 (1.50)
		MA V	8.7(8.5)	0.85(0.75)
		Laxmi	9.5(8.0)	1.06(0.60)
PLD	Control		8.7	0.15
	K 2		17.5(12.5)	4.80(1.48)
	K 5		8.0(2.7)	1.96(1.70)
	6186.9		15.2(4.7)	5.92(1.75)
		Co 2	8.2 (x)	1.85 (x)
		MCU 1	17.5(13.5)	1.78(1.25)
		MA V	8.7(7.5)	1.70(0.91)
		Laxmi	8.7(8.5)	2.38(1.98)

* Figures in parenthesis indicate values for inoculated series.
x Samples not assayed.

MATERIALS AMD NETHODS

Soils

Fusarium wilt-free KPT and wilt-sick PLD cotton soils were used.

Cotton strains

Diploid strains: K 2, K 5 and 6186.9.

Amphidiploid strains: Co 2, MCU 1, MA V and Laxmi. Root exudate samples were drawn from the same stocks reported previously (Sulochana [12]).

Test organisms

X-ray mutants 1633, 17084, 34486, and 37401 of *Neurospora crassa* were used for *p*-aminobenzoic acid, thiamine, biotin and choline, and inositol assay respectively. Mutant 299 of *N. sitophila* was used for pyridoxine assay.

Assay

Assay methods and all other cultural procedures described by Barton-Wright [1], were strictly adhered to.

Standards in duplicates at six levels for each vitamin were run initially to check on the sensitivity of the mutants. Samples were assayed at the levels of 2.5, 5.0, and 10 ml in triplicates and the standard series were repeated for every assay. Assays were carried out in 100-ml Pyrex Erlenmeyer flasks and the final volume of medium in each flask was 20 ml. The values were calculated to 250 ml of the stock sample solutions as in the previous study. Recovery tests were carried out for every series.

RESULTS AND DISCUSSION

Table 1 shows the contents of thiamine and biotin in the root exudates of cotton. Thiamine was detected in low amounts in PLD (wilt-sick) soil only. In the root exudates thiamine was recorded in higher levels in the case of diploid strains; particularly high were the values for the strains K 2 and 6186.9. In the inoculated series, thiamine contents were uniformly low in both diploid and amphidiploid strains of cotton.

Biotin was detected only in traces in KPT and PLD soils. Biotin was present in appreciable quantities in the exudates of all the strains. The amounts were higher in the exudates in the case of diploid strains, especially in those grown in PLD soil. Biotin was present in the exudates of inoculated plants of all the strains but the amounts were lower compared to the respective healthy controls.

TABLE 1

Thiamine and biotin contents of root exudates of cotton *

Soil	Strain		Vitamin μg/250 ml	
	Diploid	Amphidiploid	Thiamine	Biotin
KPT	Control		0	trace
	K 2		16.25(0.50)	8.75(3.75)
	K 5		2.50(1.25)	7.50(4.80)
	6186.9		25.00(1.35)	8.89(5.00)
		Co 2	1.68 (x)	2.00 (x)
		MCU 1	2.00(0.55)	8.12(5.20)
		MA V	2.36(0.86)	5.25(5.00)
		Laxmi	2.00(0.25)	3.75(3.75)
PLD	Control		0.32	trace
	K 2		12.50(1.25)	15.00(5.00)
	K 5		5.20(2.25)	12.50(6.25)
	6186.9		18.75(0.36)	10.00(4.00)
		Co 2	1.27 (x)	5.00 (x)
		MCU 1	2.05(0.32)	6.25(2.75)
		MA V	2.25(0.32)	9.00(4.25)
		Laxmi	2.08(0.25)	4.94(3.75)

* Figures in parenthesis indicate values for inoculated series.
x Samples not assayed.

TABLE 2

Pyridoxine and *p*-aminobenzoic acid contents of root exudates of cotton *

Soil	Strain		Vitamin μg/250 ml	
	Diploid	Amphidiploid	Pyrodixine	*p*-Aminobenzoic acid
KPT	Control		8.0	0.25
	K 2		13.0(10.0)	3.51(1.38)
	K 5		15.0(10.0)	1.53(1.23)
	6186.9		13.5(9.0)	7.55(1.53)
		Co 2	10.5 (x)	1.48 (x)
		MCU 1	13.2(12.0)	1.75 (1.50)
		MA V	8.7(8.5)	0.85(0.75)
		Laxmi	9.5(8.0)	1.06(0.60)
PLD	Control		8.7	0.15
	K 2		17.5(12.5)	4.80(1.48)
	K 5		8.0(2.7)	1.96(1.70)
	6186.9		15.2(4.7)	5.82(1.75)
		Co 2	8.2 (x)	1.85 (x)
		MCU 1	17.5(13.5)	1.78(1.25)
		MA V	8.7(7.5)	1.70(0.91)
		Laxmi	8.7(8.5)	2.38(1.98)

* Figures in parenthesis indicate values for inoculated series.
x Samples not assayed.

Table 2 shows the contents of pyrodixine and *p*-aminobenzoic acid in the cotton root exudates. Pyridoxine was found in fairly high amounts in both the soils. All the strains grown in KPT soil showed slight to considerable increase in the contents of pyridoxine in their root exudates. Among those grown in PLD soil, only 3 strains of cotton *viz* K 2, 6186.9, and MCU 1 showed increase in pyridoxine levels over the unplanted soil control. In the inoculated series, reduction to lower amounts than the soil control was noted in the case of K 5 and 6186.9 grown in PLD soil. In other strains, differences between the healthy and inoculated series were not considerable though lower in the latter.

p-Aminobenzoic acid was found in both the cotton soils, the amount being higher in KPT soil. The amounts of this vitamin in the exudates of diploid strains K 2, and 6186.9 were appreciably higher than K 5, and the four amphidiploid strains of cotton. *p*-Aminobenzoic acid was also found in the exudates of all the inoculated series but in lesser amounts than the respective controls.

Table 3 shows the contents of choline and inositol in the root exudates of cotton. Choline was found to be higher in KPT soil than in PLD soil. Choline contents were considerably higher than the control in the exudates of plants grown in PLD soil. In those grown in KPT soil, the increase in choline was only slightly greater than the soil control value, except in the case of one amphidiploid strain, Laxmi. In the inoculated series, the amounts for the various strains approximated to the soil control level in the KPT series, but in the PLD series, the values were almost equal to those of the healthy controls.

In the case of inositol assay, while the mutant showed characteristic response to graded levels of inositol in the standard series in the test samples growth of the fungus was sparse at 10 ml level and no growth occurred at the lower levels of 5.0 and 2.5 ml tested. Quantitative estimation was therefore not feasible and the results are indicated qualitatively in Table 3.

Inositol was detected in both the soils and in the exudates of all the strains grown in KPT soil. In plants grown in PLD soil, inositol was found in all, barring those of two amphidiploid strains MA V and Laxmi. In the inoculated series, inositol was not detected except in the case of 6186.9 grown in KPT and MCU 1 grown in PLD soil.

TABLE 3

Choline and inositol in the root exudates of cotton *

Soil	Strain		Vitamin μg/250 ml	
	Diploid	Amphidiploid	Choline	Inositol
KPT	Control		10.0	+
	K 2		12.00(11.00)	+ (−)
	K 5		11.75(10.75)	+ (−)
	6186.9		10.25(10.00)	+(+)
		Co 2	10.00 (x)	+ (x)
		MCU 1	10.25(9.75)	+ (−)
		MA V	10.75(10.25)	+ (−)
		Laxmi	17.00(10.75)	+ (−)
PLD	Control		6.5	+
	K 2		11.00(10.25)	+ (−)
	K 5		12.00(11.25)	+ (−)
	6186.9		11.75(11.50)	+ (−)
		Co 2	10.50 (x)	+ (x)
		MCU 1	11.75(10.75)	+ (+)
		MA V	12.25(11.75)	− (−)
		Laxmi	10.75(10.50)	− (−)

* Figures in parenthesis indicate values for inoculated series.
x Samples not assayed.

Table 4 shows the total B-Vitamin contents of root exudates of cotton. The total vitamin contents in the root exudates of K 2, and 6186.9 were higher than in the case of K 5, and the four amphidiploid cotton strains. In the former two strains, the reduction in

TABLE 4

Total B-Vitamins in root exudates of cotton, μg/250 ml

Cotton strain	KPT Soil		PLD Soil	
	Treatment			
	Healthy	Inoculated	Healthy	Inoculated
Diploid				
K 2	33.26	6.93	40.63	11.06
K 5	18.28	9.03	18.51	3.73
6186.9 . . .	46.69	8.63	45.60	1.64
Amphidiploid				
CO 2	7.41	*	7.10	*
MCU 1 . . .	16.82	11.00	17.87	8.11
MA V	8.91	6.88	12.48	3.81
Laxmi . . .	8.06	3.35	8.93	5.31

* Samples not assayed.

the vitamin contents in the exudates of inoculated plants were markedly lower in both the soil substrates, but in the others the differences between the healthy and inoculated series were not considerable. In all the strains in both healthy and inoculated series, the total vitamin contents were higher than the soil controls. Not much difference could be found between the plants grown in KPT and PLD soils.

In 1939, West [13] reported presence of thiamine and biotin in root exudates of two strains of flax employing *Staphylococcus aureus* for thiamine assay and *Rhizobium trifolii* Wisconsin strain 205 for biotin assay. Although the validity of these assay methods were not guaranteed, the specificity of these microbiological tests had been satisfactorily established for the strains employed. Qualitative detection of metabolites having thiamin-biotin replacement value in the root exudates of *Eleusine coracana* Gaertn., *Oryza sativa* L., *Phaseolus mungo* L., *P. radiatus* L., and *Cicer arietinum* L. was earlier reported from this laboratory using *Piricularia oryzae* Br. et Cav. which is heterotrophic to thiamin and biotin. In the present study, assay techniques employing X-ray mutants of *Neurospora crassa* and *N. sitophila* enabled quantitative determination of some of the B group vitamins in the root exudates of several strains of cotton grown in native cotton soils. The results obtained clearly indicate the presence of thiamine, biotin, *p*-aminobenzoic acid, pyridoxine in some, choline (depending upon the soil substrate), and traces of inositol in the root exudates of cotton strains studied. The overall increase of vitamins in the soil substrate consequent to plant growth for 15 days was, however, low (range 15.6 to 54.8 μg in 250 ml) compared to the high increase in the amino acid contents, ranging from 6.63 to 12.76 mg in 250 ml of the exudate sample, reported previously (Sulochana [12]). It is generally known that requirements for vitamins by heterotrophic microorganisms are infinitesimally small compared to the relatively high essentiality range of amino acids for micro-organisms that are not capable of synthesizing, conditionally or otherwise, all the required amino acids for normal growth. Comparatively low increase in vitamin-requiring bacteria in the rhizosphere might be due to other limiting factors such as microbial competition, and differences in rates of growth of these and other groups. In cotton, liberation of B-vitamins by roots has now been demonstrated. Also positive rhizosphere effects of cotton

strains with reference to vitamin-requiring bacteria have been recorded. This was seen even in one week old cotton plants (unpublished). It appears quite likely that plant roots do contribute to the vitamin supply in soil. Whether this source is significant or not, compared to other sources, chiefly microbial synthesis, will have to be carefully considered by further experimentation.

SUMMARY

Cotton field soils from *Fusarium* wilt-free zone (KPT) and a wilt-sick zone (PLD), and root exudates of diploid and amphidiploid strains of cotton grown in these two soils were analyzed for B-vitamins by microbiological assay technique employing X-ray mutants of *Neurospora crassa* and *N. sitophila*.

PLD soil was found to contain choline, pyridoxine, *p*-aminobenzoic acid, traces of biotin, and inositol. KPT soil was found to contain pyridoxine, choline, thiamine, *p*-aminobenzoic acid, and traces of biotin and inositol.

Thiamine, biotin, pyridoxine, and *p*-aminobenzoic acid were found in higher amounts in the exudates of diploid cotton strains, especially K 2 and 6186.9 in KPT soil. In addition to the above, choline was also found in the exudates of diploid strains grown in PLD soil.

Amphidiploid strains showed comparatively lower amounts of these vitamins in the root exudates with a few exceptions.

In the inoculated series, inositol was absent in most cases and the contents of other vitamins were reduced to varying extents compared to the respective healthy controls.

ACKNOWLEDGEMENTS

The author wishes to express her grateful thanks and deep indebtedness to Prof. T. S. Sadasivan, D. Sc. (Lond.), F. N. I., Director, University Botany Laboratory, Madras-5.

Received September 6, 1961

REFERENCES

1 Barton-Wright, E. C., The Microbiological Assay of The Vitamin B-Complex and Amino Acids. Sir Isaac Pitman and Sons, Ltd., London (1952).

2 Bhuvaneswari, K. and Sulochana, C. B., Assay of root exudates. Curr. Sci. **24**, 376–377 (1956).

3 Harley, J. L., Association between microorganisms and higher plants (mycorrhiza). Ann. Rev. Microbiol. **6**, 367–386 (1952).

4 Lilly, V. G. and Leonian, L. H., Vitamin B in soil. Science **89**, 292 (1939).

5 Lochhead, A. G., Rhizosphere microorganisms in relation to root-disease fungi.

Pp. 327–338 in Plant Pathology, Problems and Progress 1908–1958, Edited by C. S. Holton, G. W. Fischer, R. W. Fulton, Helen Hart, and S. E. A. McCallan, University of Wisconsin Press, Madison (1959).

6 Lochhead, A. G. and Burton, M. O., Incidence in soil of bacteria requiring vitamin B_{12} and the terregens factor. Soil Sci. **82**, 237–245 (1956).

7 Loehwing, W. F., Root interactions in plants. Bot. Rev. **3**, 195–239 (1937).

8 Roulet, M. A., Recherches sur les vitamines du sol. Experientia **4**, 149–150 (1948).

9 Roulet, M. A. and Schopfer, W. H., Les vitamines du sol et leur signification. Int. Congr. Soil Sci. Amsterdam **1**, 202–203 (1950).

10 Schmidt, E. L. and Starkey, R. L., Soil microorganisms and plant growth substances. II Transformations of certain B-Vitamins in soil. Soil Sci. **71**, 221–231 (1951).

11 Starkey, R. L., Changes in the contents of certain B-vitamins in organic materials decomposing under aerobic and anaerobic conditions. Soil Sci. **57**, 247–270 (1944).

12 Sulochana, C. B., Amino acids in root exudates of cotton. Plant and Soil **16**, 312–326 (1962).

13 West, P. M., Excretion of thiamine and biotin by the roots of higher plants. Nature, London **144**, 1050–1051 (1939).

14 Wilson, P. W., The Biochemistry of Symbiotic Nitrogen Fixation. Univ. of Wisconsin Press, Madison (1940).

15 Winter, G., Humus und Pflanze: Die Wechselwirking von Pflanze und Boden im Lichte neuester Forschungen. Orion **17**, 377–381 (1952).

Plant and Soil XVI, no 3 June 1962

COTTON ROOTS AND VITAMIN-REQUIRING AND AMINO ACID-REQUIRING BACTERIA *

by Miss C. B. SULOCHANA

The University Botany Laboratory, Madras-5, India

INTRODUCTION

Studies on amino acid and B-vitamin contents in root exudates of cotton strains under a chosen set of conditions have been reported previously (Sulochana [13 14]). Employing the same cultural conditions, an attempt has been made to study the effects of cotton roots on the microflora of representative cotton soils. As the root effect cannot be restricted to a well-defined rhizosphere zone when plants are grown in soil–water culture, the present study is restricted to a broad-based assessment of two groups of soil bacteria only, *viz*, vitamin-requiring bacteria and amino acid-requiring bacteria. Highly significant rhizosphere effects of six crop plants with reference to bacteria requiring amino acids (Group II) and bacteria requiring vitamins (Group III) were observed by Wallace and Lochhead [18], following the nutritional grouping proposed by Lochhead and Chase [10]; of the plants studied, the rhizosphere effects of flax, alfalfa, and wheat in the seedling stage were greater in the case of Group III than Group II, and oats was shown to have nearly equal influence on organisms of Group II and III. Considering the highly significant changes in the microbial balance in the rhizosphere in the above study, the authors indicated that the root excretion must be considered an important factor; but conflicting opinions have been expressed in later literature with reference to vitamins. The aim of this study was to find out if the root effects of cotton strains on the two physiological groups of bacteria could be correlated with the relative exudation of amino acids and B-vita-

* Part of Doctoral Thesis, University of Madras.

14 Sulochana, C. B., B-vitamins in root exudates of cotton. Plant and Soil **16**, 327–334 (1962.)

15 Taylor, C. B., The nutritional requirements of the predominant bacterial flora of the soil. Proc. Soc. Appl. Bacteriol. **14**, 101–111 (1951).

16 Timomin, M. I., The interactions of higher plants and soil microorganisms. III. Effect of by products of plant growth on activity of fungi and actinomycetes. Soil Sci. **52**, 395–413 (1941).

17 Wallace, R. H., and Lochhead, A. G., Qualitative studies of soil microorganisms. VIII. Influence of various crop plants on the nutritional group of soil bacteria Soil Sci. **67**, 63–69 (1949).

18 West, P. M. and Lochhead, A. G., Qualitative studies of soil microorganisms. IV. The rhizosphere in relation to the nutritive requirements of soil bacteria. Can. J. Research **18**, 129–135 (1940).

Plant and Soil XVI, no 3 June 1962

MICRONUTRIENT DEFICIENCY SYMPTOMS OF RICE GROWN IN NUTRIENT CULTURE SOLUTIONS

by A. Q. M. B. KARIM * and JAMES VLAMIS

Department of Soils and Plant Nutrition, University of California, Davis, California

INTRODUCTION

There have been few reports of micronutrient requirements for field-grown rice and there is a general assumption that rice plants rarely suffer from such deficiencies in their usual mode of field cultivation. But in rapidly developing countries such as Pakistan, India, Malaya, Burma, *etc.* where fertilizer practices may be expected to increase, the soils have been subjected for centuries to a continual process of depletion of essential nutrients by crops. In higher rainfall areas in particular, leaching tends to reduce considerably the essential nutrient elements, including micronitruents, with the possible exception of iron and manganese, the availability of which may increase.

Under such conditions, increasing use of fertilizers to expand crop production is likely to result in a higher incidence of micronutrient deficiencies, resulting in low yields or crop failures. Consequently, information on the foliar deficiency symptoms and other typical characteristics resulting from the lack of essential micronutrients may be very useful in diagnosing and correcting such deficiency diseases under field conditions. It is also interesting to have a comparative knowledge of the deficiency symptoms of rice with those of other cereal crops like barley, wheat, and oat because of the different conditions of growth as between water-logged and dry-land conditions.

* Reader and Head of the Department of Soil Science, Dacca University, Dacca, East Pakistan.

Very little work has been done so far describing the deficiency symptoms of rice supplied with suboptimal amounts of micronutrients, although information of a similar kind is plentiful for tomato, corn, and oat [5]. Fujiwara and Tsutsumi [4] in Japan from water-culture experiments were able to describe the deficiency symptoms of rice under stress for manganese, zinc, and iron, but failed to produce the symptoms for copper, and molybdenum deficiencies.

Broyer *et al.*[1] in nutrient-culture experiments with tomato plants showed that chlorine is essential for plant growth. In further experiments by Johnson *et al.*[6] chlorine-deficiency symptoms or decreased yields were obtained with ten species including barley and corn, when chlorine was not added to the cultures.

The present investigation was made to determine the deficiency symptoms and other characteristics of rice grown in nutrient culture solutions lacking in each of the following – manganese, zinc, boron, chlorine, copper, and molybdenum.

MATERIALS AND METHODS

Stock solutions of reagent-grade chemicals, recrystallized twice, were made in demineralized distilled water and preserved in polyethylene reagent bottles. All the containers and apparatus used in this experiment were washed carefully several times with distilled water first, and then rinsed with dilute nitric acid and finally with demineralized distilled water. Nutrient solutions were made out of these stock solutions and transferred to polyethylene containers of 2-liter capacity. Two rice plants, about 14 days old, with their roots completely dipping into the nutrients solution, were transplanted in each container. Duplicate containers were set up for each treatment. The containers were protected from light by placing them in cardboard boxes blackened on the inside with carbon spray.

Micronutrient stock solutions, deficient in each element under examination, were made and added to the culture solution at the rate of 1 cc per liter once a week along with the major elements. Three weeks after the date of transplanting, the quantity of major elements added was doubled to meet the needs of the growing plants. Ferrous sulphate solution (1.112 g/l at pH 3.5, adjusted by H_2SO_4) was added every alternate day.

Seedlings were germinated with demineralized distilled water in a Pyrex beaker of 4,000 ml capacity. During germination the content of the beaker was replaced once by a nutrient cullture solution of major elements (1/4 strength). "Caloro" variety of rice was used for this experiment. Since it has been shown that rice may be grown without forced aeration of the roots [11] the plants in these experiments were grown in unaerated nutrient solutions.

The plants were placed in a greenhouse equipped with evaporative coolers. The overhead glass was coated with a thin film of whitewash in orders to control excessive greenhouse temperature.

Composition of the nutrient culture solution was as follows:

Complete nutrient culture solution		
Compound	Stock conc.	ml stock/liter final solution
KNO_3	M	1
$Ca(NO_3)_2$	*M*	1
KH_2PO_4	*M*	2
$MgSO_4$	*M*	1
Micronutr.	Johnson's solution [6]	1
$FeSO_4$	1.112 g/l	4

Micronutrient solution as used by Johnson [6]			
Compound	Stock conc., g/l	Element	Conc. of element in nutrient solution, ppm
KCl	3.728	Cl	1.77
H_3BO_3	1.546	B	0.27
$MnSO_4 . H_2O$	0.845	Mn	0.274
$ZnSO_4 . 7H_2O$	0.575	Zn	0.131
$CuSO_4 . 5H_2O$	0.125	Cu	0.032
H_2MoO_4	0.017	Mo	0.0096

In preparing deficient micronutrient solutions, special precautions were taken to avoid contamination and a separate pipette was used for the addition of each micronutrient solution.

The deficiency symptoms for copper, molybdenum, and chlorine, especially for the former two, developed very late. Their effects on the growth of the plant were not as pronounced as in the case of boron, manganese, and zinc. Therefore, another experiment was set up to produce deficiency symptoms for copper, molybdenum, and chlorine, taking utmost care for avoiding contamination. In this experiment one plant was transplanted to each container with a more concentrated nutrient solution. Cotton, which had been used in the first experiment, was replaced by dacron for supporting the seedlings. Also, the whitewash film on the glass was removed in order to increase the light intensity. The solution was renewed once a month but the addition of ferrous sulphate solution was made as usual. The composition of the culture solution in this case was as follows:

Complete Nutrient Culture Solution		
Compound	Stock conc.	Ml. stock/liter final solution
KNO_3	M	5
$Ca(NO_3)_2$	M	2
KH_2PO_4	M	2
$MgSO_4$	M	2
Micro Nut.	Johnson's solution	1
$FeSO_4$	(1.112 g/l)	2

In both the experiments, the growth conditions of the plants, including root development, were minutely observed. After about four months from the date of transplanting, when the affected plants were in the most critical condition, they were harvested. The fresh and dry weights of the shoots and roots, including their length and tillering, were determined and recorded in Tables 1 (a,b) and 2 (a, b).

Data on the seed production and per cent germination of the seed produced in each treatment are given in Table 3. The viability of the seeds was determined by a germination test in which 25 seeds were placed on moist filter paper in petri dishes and the emergence of shoots and roots observed over a ten-day period.

Analytical results of the copper, molybdenum, and chlorine content of the shoots and seeds are given in Table 4. Copper was determined by the carbamate method, chloride by potentiometric titration, and molybdenum as the thiocyanate extracted with a 1 : 1 mixture of isoamyl alcohol and carbon tetrachloride.

RESULTS AND DISCUSSION

Foliar deficiency symptoms for lack of manganese and zinc appeared almost similtaneously in the second week from the date of transplanting, and that for boron and chlorine occurred in the fourth and sixth week, respectively. On the appearance of the deficiency symptoms for manganese, zinc, boron, and chlorine, the growth of the plants became stunted although new tillers developed in the case of boron and chlorine. Root development in respect to its length and volume was completely restricted and this was particularly noticeable in the case of manganese and zinc, in that order. The chlorine deficiency in the first experiment became critical at the

flowering stage, but in the second experiment where contamination was reduced by greater precautions, the plants developed the deficiency symptoms in the 5th week and became critical much earlier than in the first experiment. The chlorine deficiency resembled to some extent that of boron and calcium. Boron and chlorine requirements of rice were probably much less than those of manganese and zinc, as evident from the late appearance of the deficiency symptoms for the former two elements.

Copper and molybdenum requirements of rice appeared to be considerably lower than those of other micronutrients. Foliar deficiency symptoms for copper and molybdenum appeared distinctly at the flowering stage but in the second experiment those occurred about two weeks earlier than in the first experiment, especially for molybdenum.

Nevertheless it was not as severe as in the case of other micronutrients. The plants with their deficiency symptoms and unhealthy appearance, grew up to maturity, but their grain production was considerably affected.

The copper-deficient plants remained bluish green up to the time of harvest and the ripening of the seeds was delayed by about two weeks.

The chlorine- and boron-deficiency symptoms developed in the youngest leaves and those for zinc appeared in the older leaves, specifically the third leaves. The deficiency symptoms for manganese appeared in the younger leaves, next to the growing shoot. The deficiency symptoms for molybdenum initially developed in the older leaves but in the case of copper newly emerging leaves showed the most severe symptoms.

The description of the deficiency symptoms for each of the micronutients under observation was as follows (see also Plates 1 and 2):

Manganese

In the third week from the date of transplanting, the marked interveinal striping of alternating yellow and green color developed in the youngest leaves next to the shoot of the manganese-deficient plants, the older leaves remaining relatively yellowish green. The chlorotic streaks spread downward from the tips to the base of the

TABLE 1a

Comparative growth of rice grown in nutrient culture solutions deficient in Mn, Zn, B, Cu, Mo, and Cl after 4 month period (May to September)

Treatment	Fres wt. of 4 plants in g			Dry wt. in g			% of dry matter in shoots	Weight of grain from 4 plants, g	
	Shoot	Root	Total	Shoot	Root	Total		Green	Dry
Complete*	356.5	180.0	536.5	140.0	28.9	168.9	39.2	123.3	85.5
−B	177.8	56.7	234.5	50.8	8.5	59.3	28.57	0	0
−Mn	5.2	1.7	6.9	1.3	0.2	1.5	25.0	0	0
−Zn	13.2	6.1	19.3	3.0	0.7	3.7	22.7	0	0
−Cl*	309.5	132.0	441.5	147.4	19.7	167.1	47.6	6.5	3.8
−Cu*	308.5	111.9	420.4	119.5	20.9	140.4	38.7	58.5	41.1
−Mo*	399.5	135.4	534.9	151.3	24.5	175.8	37.8	64.3	46.5

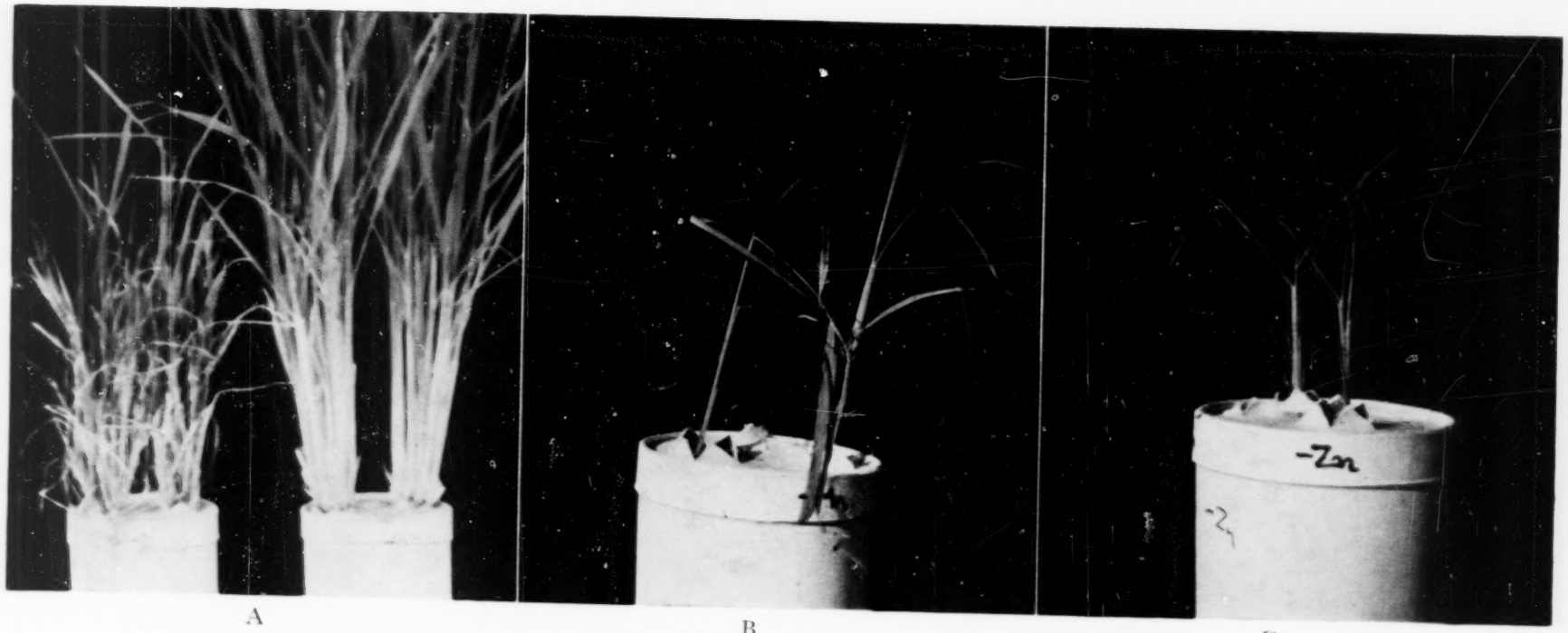
* The plants under these treatments were grown up to maturity to examine the deficiency effects on grain formation. The remaining plants failed to complete the growth cycle.

TABLE 1b

Comparative growth of rice in nutrient culture solutions deficient in Mn, Zn, B, Cu, Mo, and Cl, after 4-months period (May to September)

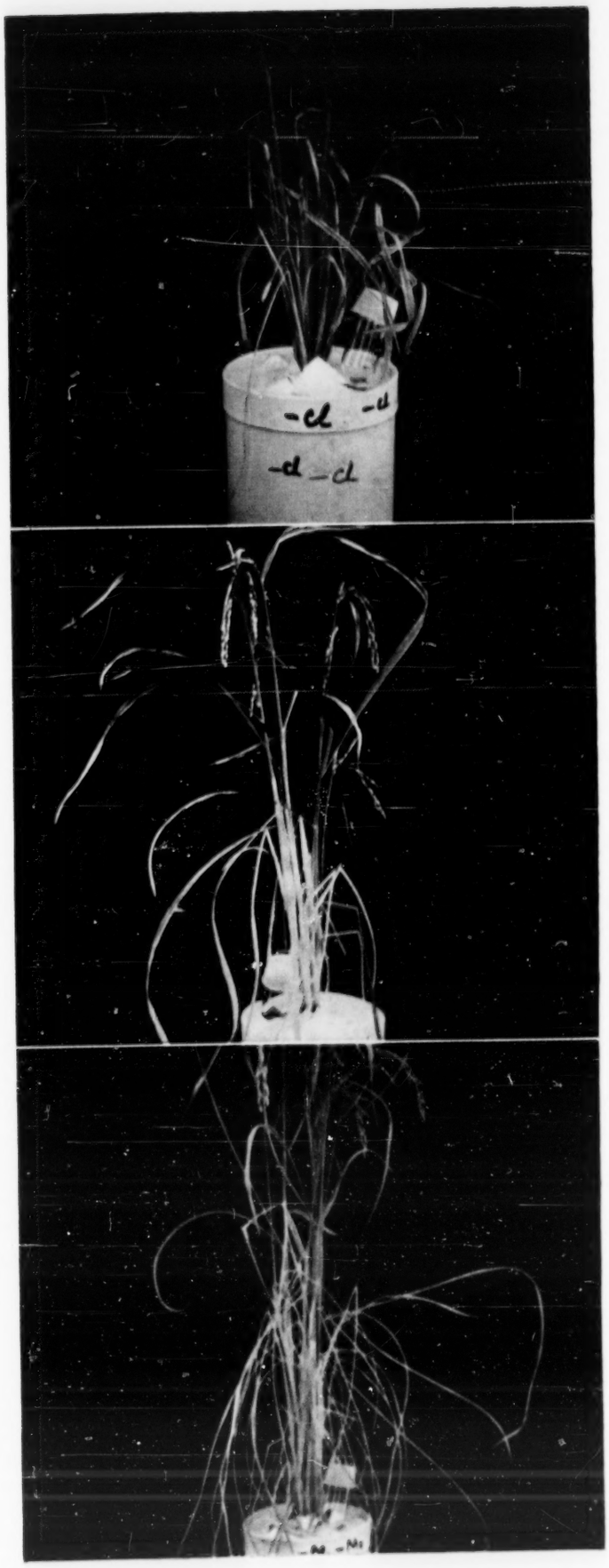
Treatment	Ave. No. of tillers	Height of shoot in inches	Length of root in inches	No. of leaves per plant	Color at start of deficiency	
					Leaf	Root
Complete	19	36	*	many	Light green	light brownish white
−B	17	21	14	many	Dark green	Brown
−Mn	1	10	2.5	5–6	Light green	Brownish width many short needle-like roots
−Zn	1	16	6.5	6–7	Light green	Light brownish white with fibrous and soft rootlets
−Cl	17	28	*	many	Dark green	Brown
−Cu	14	33	*	many	Bluish green	Brownish white
−Mo	13	34	*	many	Light yellowish green	Brownish white

* The plants were grown up to maturity and the root formed net-like structure, thus making it difficult to measure its length.



A B C

Plate 1. Rice plants prior to harvesting, grown in culture solutions. **A** minus boron and complete; **B** minus manganese, **C** minus zinc



A

B

C

Plate 2. Rice plants prior to harvesting grown in culture solutions. **A** minus chlorine, **B** minus copper, **C** minus molybdenum

TABLE 2a

Comparative growth of rice grown in nutrient culture solutions deficient in Cu, Mo, and Cl after four month period (August to November)

Treatment	Fresh wt. of plants in g			Dry wt. in g			% of dry matter in shoot
	Shoot	Root	Total	Shoot	Root	Total	
Complete	156.0	64.6	220.6	46.9	9.4	56.3	30.06
−Cu	67.8	32.5	100.3	15.4	4.4	19.8	22.7
−Mo	121.1	53.0	174.1	41.6	7.6	49.2	34.3
−Cl	52.4	35.1	87.1	20.1	5.1	25.2	38.3

TABLE 2b

Comparative growth of rice grown in nutrient culture solutions, deficient in Cu, Mo, and Cl after four months period (August to November)

Treatment	Ave. number of tillers	Ave. height of shoot in inches	No. of leaves per plant	Color at start of deficiency	
				Leaves	Roots
Complete	35	45	many	Green	Faintly brownish white with many new roots
−Cu	13	32	many	Bluish green	Light brownish white with no new root
−Mo	23	39	many	Yellowish green	Faintly brownish white with many new roots
−Cl	31	31	many	Dark green	Brown with less fibrous rootlets

leaves, parallel to the veins and about two weeks later some dark brown necrotic spots appeared on these leaves. The next leaf became seriously chlorotic, followed by quick necrosis. The growth of the plant at this stage became completely stunted. The root development of the manganese-deficient plants did not proceed at all, although many short and fine needle-like rootles were seen around the root zone. The older leaves were unaffected for a few days, but later on, chlorotic stripes also appeared on them, especially on the third leaf. The newly emerging leaves, although growing, became short and narrow with severe chlorosis of pale yellowish green color. No other tillers were formed (Table 1b) and the production of seed was nil.

Zinc

The mid-ribs of the youngest leaves, especially at the base, became yellowish white, the intensity of which decreased with length upward. The dark-brown necrosis then appeared on the upper part near the tip of the third leaves of the zinc-deficient plant in the second week from the date of transplanting. The top growth was suppressed, as a result of which the last emerging leaf grew very little. The symptoms increased with the lapse of time till the whole leaf became necrotic and rolled from the sides near the tip and shut. At this stage the growth of the plant became stunted and the older leaves were affected and died. The new-emerging leaf showed symptoms within five to six weeks and the plants finally died. The roots became fibrous and relatively soft to the touch. Their growth both in length and volume was seriously affected although it was comparatively better than under manganese deficiency. Tillering was completely absent in the zinc-deficient plants (Table 1b). No seeds were formed.

Boron

Unlike the manganese and zinc deficiency, the symptoms for boron deficiency occurred in the youngest shoots. The plants first became dark-green and succulent. Then the last emerging leaves became short both in length and width with many faintly yellowish white areas in the middle or upper part, near the tip of the leaves. The white areas occurred on one side or on both sides of the rib. The top growth was completely stopped. At this stage the next emerging leaves came out folded and bent with almost white color. If the leaf opened up, its upper half soon died and turned brownish white. The dark-green color of the older leaves remained unaffected, although later on many small, white chlorotic spots appeared all over the tissues in both young and old leaves alike. Many new tillers developed (Table 1b) but met the same fate in respect to their top growth. The entire plant including its tillers looked like a small bush. The root development was also affected but not so seriously as under manganese and zinc deficiency. The symptoms to some extent resembled those of calcium deficiency. The plant remained alive for a considerable length of time but failed to produce seed.

Chlorine

The chlorine-deficient plant became first dark-green. Then many white areas or a single white area of about half inch diameter appeared in the middle or in the upper part near the tip of the youngest leaves. The white area without chlorophyl sometimes gave a pinching or clipping appearance on the affected part of the leaf which then became bent like a bow. Sometimes such white areas might occur along one or both the margins of the leaf over a wide length and became necrotic later on. The next leaf grew only slightly (2 to 4 inches in length and 1/4 inch in diameter), with many white areas spread all over the leaf. The upper part of this leaf was dead and folded. Thus the top growth was completely stopped, although many new tillers developed (Table 1b) and met the same fate. At this stage the root development also became restricted. The lower leaves remained dark-green for a while but later on they showed dark-gray necrosis on their tips, which spread along the margins till the entire leaf area was affected. To some extent the symptoms initially looked like those of boron and calcium. Within two months from the date of transplanting, the entire plant became affected and all the leaves dried with dark-gray color, as revealed by the second experiment. A few seeds were formed in the first experiment and they showed a high germination rate (Table 3).

TABLE 3

Rice seed production in second experiment and per cent germination of seed from both experiments

Treatment	Wt. of grain from 2 plants		Aver. no. seed per panicle		% germination of full seed	
	Green	Dry	Full	Empty	2nd exp.	1st exp.
Complete	73.6	50.5	90	6	84	96
Minus Cu	20.3	12.2	49	30	0	36
Minus Mo	42.7	31.9	64	58	0	68
Minus Cl	0	0	0	0	—	92

It is remarkable that while the dry weight of the shoots produced in the absence of chlorine was of the same order of magnitude as the control, the seed production was sharply curtailed by the lack of chlorine in the first experiment. The vegetative growth was reduced still further and no seeds were produced at all in the second experiment.

Analysis of the shoots from both experiments and of the seeds from the first one (Table 4) showed surprisingly high amounts of chlorine present in the deficient tissues, much higher than is usually encountered in micronutrient work.

TABLE 4

Micronutrient content of rice plants grown in complete and deficient nutrient solutions *

	ppm		
	Cu	Mo	Cl
Shoots			
First experiment			
Complete	9.8	.86	327
Deficient	6.3	.50	96
Second experiment			
Complete	12.4	1.02	562
Deficient	4.6	.35	36
Seeds			
Original	8.2	.49	384
First experiment			
Complete	11.4	.58	416
Deficient	4.9	.23	35
Second experiment			
Complete	9.2	.83	747
Deficient	3.1	.18	—**

* Assistance in the analytical work contributed by H. Van Ryckevorsel and R. M. Carlson.

** No seeds were formed by the chlorine deficient plants of the second experiment.

Molybdenum

The minus-Mo plants initially grew as well as the plants supplied with complete nutrients. Then after about five weeks from the date of transplanting, the leaves of the deficient plants turned pale yellowish green. A few leaves became twisted and the older leaves developed yellowish chlorosis at their tips, which moved downward along the margins of the leaves. In this way the entire leaf area became affected and dried out with pinkish brown or light-brown color. New tillering at this stage was completely stopped but the shoot and root continued to grow, although chlorosis and necrosis continued to develop on many leaves, young and old alike. In this

way all the leaves became affected and dried out before ripening of the seeds. The grain production was thus considerably reduced but vegetative and root growth was fairly high. There were many seeds without grain in them. The color of the root became pinkish white.

The viability of the seeds produced in the absence of molybdenum during the first experiment was good, but the seed from the second experiment showed zero per cent germination (Table 3). Yet the analysis for molybdenum was fairly close for the two sets of seed as was that of the shoots (Table 4) grown in the absence of molybdenum.

Copper

The leaves of the copper-deficient plants at first appeared bluish green. Subsequently the leaves developed yellowish white chlorosis near the tips as if they were slightly bleached. The chlorosis moved downward along both sides of the mid-rib, followed by dark-brown necrosis of the tips. The new, emerging leaves failed to unroll and maintained a needle-like appearance for the entire leaf, or occasionally for half the leaf, the basal end developing normally.

Tillering and root development, which were originally slow were now completely stopped at this stage but the top growth continued very slowly. The rice head was very short in length and the size of the seeds was relatively small. A large proportion of the seeds were empty and many of those that were filled showed an abnormal brown stain at one end of the seed. The bluish green color of the shoots persisted up to maturity, and the ripening of the seeds was delayed by about two weeks. Many of the seed coats were craked and a large number of seed remained green to the end, failing to develop the straw color characteristic of ripened rice seed.

The viability of the seed was affected by the deficiency of copper with a germination in the first experiment of only 36 per cent while in the second experiment the germination percentage was zero (Table 3). The copper content of the seeds produced in the two experiments was 4.9 ppm and 3.1 ppm, successively (Table 4). These figures may indicate something in the nature of critical values for the copper status of rice seed. The same may be said for the data given in the same table for the copper content of the shoots.

It could be inferred from these results that rice in general requires all the micronutrients under examination for its proper growth. Lack of any of them produced specific symptoms on rice. Manganese-, zinc-, and boron-deficiency symptoms of rice were more acute than those of the other micronutrients. The omission of any one of them produced immediate effects on rice. Chlorine was intermediate in its effects. Copper and molybdenum response was the least and it is possible that whatever amounts of these two elements were present in the original seed or as impurities in the reagents, or as contaminants from the environment, enabled the plants to grow to maturity with some visible symptoms on their leaves, and also with an adverse effect on grain production, particularly the viability of the seed produced. It may be that the method of recrystallization adopted in this work was not sufficient to remove Cu and Mo from the solutions adequately, or that the requirement of rice for these nutrients is much smaller. For instance, it has been recorded by others [10] that grain crops are not as sensitive to molybdenum deficiency as other plant species.

The deficiency symptoms of manganese and zinc on the rice plant resemble those described by Fujiwara [4] except for the yellow color of the shoot, claimed by him as caused by manganese deficiency. Such a symptom was not observed in this investigation. The deficiency symptoms for manganese on oats, as described by Cook and Miller [2] and by Davies and Jonas [3] are different from those on rice described here.

The symptoms of chlorine deficiency of rice parallel some of those described for barley by Johnson *et al.*[6]. However, the wilting of many plant species mentioned by these authors as a symptom of chlorine deficiency was not observed here on rice. This may have been due to a lower light intensity in these experiments. In any case, it is suggestive that in both experiments the lowest moisture content of the shoots was found in the minus-chlorine plants.

The tissue analysis of rice shows a requirement for chlorine which is high for a micronutrient. This is in line with the conclusion drawn by Johnson *et al.* from their work with ten plant species.

The Mo-deficiency symptoms exhibited by rice bear some resemblance to the symptoms described by Piper [7] for Algerian oats. The Mo content of the shoots of deficient rice plants in our experiments ran just under .5 ppm which is the upper limit of

deficiency found in most plants. It is quite probable that more acute deficiencies can be produced by greater purification of reagents, resulting in a decreased Mo-content in the plant tissues.

The copper-deficiency symptoms of rice obtained here have some similarity to those described for oats by Piper [8]. One difference is that he makes no reference to a blue coloration of the leaves such as we obtained with rice, and was first reported by Reed [9] in a study of copper deficiency in tomato plants. Also the deficiency levels of copper in rice are considerably higher than the amounts Piper found in oats.

Photographs of some of the deficient plants produced in these experiments are shown in Plates 1 and 2.

SUMMARY

Rice plants were grown in a series of nutrient solutions lacking in individual micronutrients. Precautions were taken to minimize contamination from reagents, distilled water, and the environment. The deficiency symptoms of manganese, zinc, boron, and chlorine on rice were distinctly shown. The symptoms for copper and molybdenum deficiency appeared late and were not as severe. Nevertheless it adversely affected the production of seed. The lack of copper delayed the ripening of the grain, and the seed produced by copper- and molybdenum-deficient plants failed to germinate.

The deficiency symptoms for zinc occurred in the old leaves, while those for boron and chlorine appeared on the youngest leaves. The symptoms for manganese deficiency were most severe in the younger leaves next to the emerging shoot. Molybdenum-deficiency symptoms first developed on the older leaves but in the case of copper the newly emerging leaves showed the most severe symptoms.

The lack of manganese and zinc had a marked effect on the root development of rice. Deficiency symptoms for manganese, zinc, boron, and chlorine were so severe that the plants failed to mature. The symptoms for molybdenum and copper deficiency were not as pronounced, indicating their very small requirement by rice and the difficulty of providing and maintaining a purified medium. Plants grown in cultures lacking zinc, manganese, boron and chlorine failed to produce seed, while the seed produced by copper- and molybdenum-deficient plants failed to germinate. The shoots and seeds were analyzed for copper, chlorine, and molybdenum.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors express their gratitude to the International Cooperation Administration, the National Academy of Sciences, and The Rockefeller Foundation for their financial assistance which made it possible to carry

out this work. They are also grateful to Professor P. R. Stout for his generous advice in the course of the work and his suggestions in the preparation of the manuscript.

Received October 11, 1961

LITERATURE CITED

1 Broyer, T. C., Carlton, A. B., Johnson, C. M., and Stout, P. R., Chlorine, a micronutrient element for higher plants. Plant Physiol. **29**, 526–532 (1954).

2 Cook, R. L. and Miller, C. E., Manganese for oats and white pea beans in Michigan. Soil Sci. Soc. Am. Proc. **6**, 224–227 (1941).

3 Davies, D. W. and Jonas, E. T., Gray speck diasease of oats. Welsh J. Agr. **7**, 349–358 (1931).

4 Fujiwara, A. and Tsutsumi, M., The deficiency symptoms of microelements of rice plants. Soil and Plant Food **1**, 41–42 (1955).

5 Hewitt, E. J., Bolle-Jones, E. W., and Miles, P., The production of copper, zinc, and molybdenum deficiencies in crop plants grown in sand culture with special reference to some effects of water supply and seed reserves. Plant and Soil **5**, 205–222 (1954).

6 Johnson, C. M., Stout, P. R., Broyer, T. C., and Carlton, A. B., Comparative chlorine requirements of different plant species. Plant and Soil **8**, 337–353 (1957).

7 Piper, C. S., Molybdenum as an essential element for plant growth. J. Australian Inst. Agr. Sci. **6**, 162–164 (1940).

8 Piper, C. S., Investigations on copper deficiency in plants. J. Agri. Sci. **32**, 143–178 (1942).

9 Reed, H. S., The relation of copper and zinc salts to leaf structure. Am. J. Botany **26**, 29–33 (1939).

10 Stout, P. R. and Johnson, C. M., Molybdenum deficiency in horticultural and field crops. Soil Sci. **81**, 183–190 (1956).

11 Vlamis, J. and Davis, A. R., Effects of oxygen tension on certain physiological responses of rice, barley, and tomato. Plant Physiol. **19**, 33–51 (1944).

Plant and Soil XVI, no 3 June 1962

EFFECT OF WINTER RAINFALL ON THE AMOUNT OF NITROGEN AVAILABLE TO CROPS

by F. VAN DER PAAUW

Institute for Soil Fertility, Groningen, Netherlands

INTRODUCTION

The importance of winter rainfall for the availability of nitrogen to the crop in the following season has already been recognised in earlier work.

Russell [11] compared the need for nitrogen of wheat grown successively to that of wheat grown after fallow. During fallow, nitrogen accumulates in the soil. It appeared that the difference between the two pretreatments was considerable after dry winters when a high level of nitrogen was maintained, whereas the difference was small after wet winters, when nitrogen probably was leached.

Fisher [3] found negative correlations between rainfall at different periods of the year and the yield of wheat. This negative effect increases in November and is at its maximum in December and January. It decreases again in February. From a comparison between fields differently dressed with nitrogen it was concluded that the effect of rainfall is attributable to unequal rates of leaching of nitrogen.

Boyd, Garner, and Haines [2] found fairly strong correlations between winter rainfall and the response of sugar beets to dressings of nitrogen. Half of the variance was explained by this factor.

Similarly Baumann [1] recorded correlations between yields of rye, oats, and wheat obtained without application of nitrogen and winter rainfall.

Lehr and Veen [8] investigated the occurrence of nitrogen in different soil layers in relation to winter rainfall. They also were able

INFLUENŢA GROSIMII STRATULUI ACOPERITOR IN CULTURA CIUPERCII COMESTIBILE

Biolog N. MATEESCU
Centrul de preparate microbiologice Bucureşti

Importanţa acoperirii substratului nutritv, în cultura ciupercii comestibile, constă în faptul că stratul acoperitor favorizează în mare măsură formarea fructificaţiilor, fiind nu numai un rezervor de umezeală, ci şi o sursă de nutriţie pentru miceliul ciupercii. Lehmann (15) şi alţi autori, arată că fără acoperirea substratului însămînţat, miceliul continuă să crească fără să dezvolte fructificaţii sau în unele cazuri să producă foarte puţine. În general s-a observat că asupra producţiei de ciuperci obţinută o deosebită influenţă are grosimea stratului acoperitor.

Unii autori recomandă folosirea stratului de acoperire de diferite grosimi, astfel : Rasmusen R. (22) indică ca grosime optimă 5 cm, Tarasov (23) 4—5 cm, Cermîh (5) 3—5 cm, Gromov (10) 3—4 cm, Markov, Antonioni (18) 2—4 cm, Darlington (6) 2—5 cm, Becker Dielingen (8), Lachaume, Bellair (13), Hünte (12) 2 cm, Lehmann (15) 1,5 cm, Bulboacă (4) 1—2 cm, 1—1,5 cm şi 0,5—1 cm. Din aceste date rezultă că variaţia grosimii amestecului de acoperire este cuprinsă între limite foarte mari : 0,5—5 cm, necesitînd astfel diferite cantităţi de materiale.

Cultivatorii de ciuperci din ţara noastră foloseau diferite grosimi ale stratului de acoperire fără să cunoască influenţa exercitată de acesta. În felul acesta, ori se acoperea cu un strat prea subţire şi în acest caz producţia era diminuată, ori cu un strat prea gros care dacă nu afecta prea mult producţia, încărca preţul de cost al ciupercilor. Spre exemplu dacă trebuia executată acoperirea unei suprafeţe de cultură de 1000 mp cu un strat de 2 cm, sînt necesari 20 mc amestec de acoperire. Această cantitate de amestec totalizează 27 tone, cantitate ce reprezintă capacitatea de transport a 8—9 autocamioane. Dacă se va folosi grosimea stratului acoperitor de 4 cm, cheltuielile de manipulare şi transport se vor dubla.

Pentru cunoaşterea grosimii optime a stratului de acoperire, s-au executat începînd din anul 1960 experienţe la ciupercăria Jilava Bucureşti, unde au fost luate în studiu 7 variante.

Într-o lucrare precedentă (19) s-au indicat amestecurile de acoperire experimentate în condiţii de fort (subterane) care au permis obţinerea unor producţii ridicate de ciuperci. Paralel cu dezvoltarea culturilor de ciuperci din ţara noastră, în ultimii 3 ani, s-a continuat experimentarea în diferite condiţii de local a diferitelor amestecuri de acoperire şi anume :

I. Pentru localurile cu higroscopicitate iniţială mare şi fără încălzire tehnică, în culturile de iarnă şi toamnă :

a) nisip 3 p. + slam 1 p + turbă 1 p
b) nisip 3 p + slam 1 p + mîl 1 p
c) nisip 4 p + pămînt de ţelină 1 p
d) nisip 3 p + slam 1 p + mraniţă 1 p
e) nisip 3 p + pămînt de ţelină 1 p + slam 1 p

II. Pentru localurile uscate, în culturi de primăvară şi vară :

a) nisip 2 p + turbă 1 p
b) piatră calcaroasă 1 p + şlam 1 p + mraniţă 1 p
c) nisip 3 p + piatră calcaroasă 2 p + pămînt ţelină 1 p
d) nisip 3 p + pămînt ţelină 1 p + turbă 1 p

III. Pentru localurile foarte uscate cu încălzire tehnică asigurată :

a) nisip 1 p + turbă 1 p
b) nisip 2 p + turbă 1 p + şlam 1 p
c) nisip 1 p + piatră calcaroasă 1 p + turbă 1 p

Amestecurile de acoperire menţionate nu au fost prea compacte pentru a împiedica dezvoltarea miceliului, dar nici nu au permis o aerisire directă a substratului nutritiv, foarte dăunătoare formării butonilor de fructificare. Trebuie precizat faptul că ciupercile produse în cadrul amestecurilor de acoperire în care s-a inclus turba în proporţie de 1/3—1/2 sînt de dimensiuni mai mici decît cele produse tot pe amestecuri cu turbă în proporţie de 1/5 sau alte amestecuri. S-a căutat să se utilizeze turba în 6 amestecuri şi şlamul (spumă de var reziduu de la fabricile de zahăr) în 7 din cele 11 formule de amestecuri de acoperire, deoarece aceste componente prezintă cea mai ridicată capacitate de reţinere a apei, calitate esenţială a stratului acoperitor. Analizînd capacitatea de reţinere a apei a diferitelor componente Panov (20) indică datele prezentate în tabelul 1.

Tabel 1

Componentul	Capacitatea de reţinere a apei (în % faţă de greutatea solului absolut uscat)
Nisip	—
Argilă	22,0
Mraniţă din bălegar	78,0
Mraniţă din frunze	85,0
Pămînt de ţelină	40,0
Var (şlam)	120,0
Turbă semidescompusă	110,0

În general ţările cultivatoare de ciuperci folosesc următoarele componente pentru formarea amestecului de acoperire a substratului nutritiv :

U.R.S.S. — nisip, lut, pămînt grosier, turbă, carbonat de calciu
R.P.U. — calcar şi calcar cochilifer mărunt
Olanda — pămînt de grădină, nisip, carbonat de calciu, turbă
Franţa — pămînt de grădină, nisip fin, calcar sfărîmat
R.F.G. — nisip, lut, pămînt grosier, turbă, carbonat de calciu
S.U.A. — var, mîl, pămînt lutos, turbă
Italia — pămînt nisipos.

Rezultă deci că în R.P.R. folosirea componentelor amestecului de acoperire : nisip, pămînt de ţelină, piatră calcaroasă, şlam (var), turbă, mraniţă, mîl, întruneşte majoritatea componentelor folosite în ţările în care cultura ciupercilor este puternic dezvoltată. Aceste componente reuşesc să ofere cultivatorilor din diferite regiuni ale ţării posibilitatea folosirii la maximum a resurselor locale.

În experienţa referitoare la stabilirea grosimii optime a amestecului de acoperire s-a utilizat ca formulă de amestec : nisip 3 p + pămînt de ţelină 1 p + turbă 1 p în cultura extensivă, de primăvară, în condiţii de fort.

Substratul nutritiv a provenit din gunoi de cal fermentat în platforme de 5 m lungime×1,7 m lăţime×1,7 m înălţime, care au primit un număr de 4 întoar-

ceri în 25 de zile. În timpul întoarcerilor gunoiului s-au aplicat amendamentele şi îngrăşămintele minerale menţionate într-o lucrare precedentă (20).

Ca sistem de cultură s-au folosit biloane cu următoarele dimensiuni : baza 45 cm, înălţimea 30 cm şi coama 15 cm (80 kg substrat ml). Înaintea executării biloanelor, substratul a fost supus unei pasteurizări naturale prin dispunerea în platforme timp de 2 zile în localul de cultură. Însămînţarea a avut loc la 6 aprilie în cuiburi la distanţă 20 × 20 cm dispuse în formă de triunghi.

În perioada însămînţării, temperatura substratului a fost de 16°C, cea a localului de cultură de 13°C, iar higroscopicitatea localului de 90—95%. Aceste condiţii constituie aproape minimum biologic necesar pentru asigurarea creşterii miceliului ciupercii comestibile.

După o perioadă de 23 zile de la însămînţare s-a executat acoperirea, la care s-a folosit amestecul menţionat. Experienţa s-a desfăşurat în 7 variante cu cîte 2 repetiţii fiecare : V_1 — 0,5 cm ; V_2 — 1,0 cm ; V_3 — 1,5 cm ; V_4 — 2,0 cm ; V_5 — 2,5 cm ; V_6 — 3,0 cm şi V_7 — 3,5 cm.

Înainte de aşezarea stratului de acoperire, biloanele s-au tasat uşor pentru a asigura o uniformitate a suprafeţei de acoperit. Amestecul de acoperire a fost în prealabil dezinfectat cu formalină 2%, iar controlul pH-ului a indicat 7,2. Turba nefiind acidă (pH 6,9) nu a fost necesară corectarea cu praf de cretă 2—5%, sau carbonat de calciu cum se utilizează în alte ţări.

Tabel 2

Apariţia miceliului şi butonilor de fructificare

Varianta	Nota	Felul apariţiei
V_1 — 0,5 cm	+1	miceliu de fructificare şi butoni izolaţi
V_2 — 1,0 „	2—3	butoni de fructificare
V_3 — 1,5 „	3—4	„ „
V_4 — 2,0 „	3—4	„ „
V_5 — 2,5 „	2—3	„ „
V_6 — 3,0 „	2—3	„ „
V_7 — 3,5 „	2	„ „

Pe biloane amestecul s-a netezit la grosimea specifică fiecărei variante cu drişca de lemn, după o prealabilă pulverizare.

După acoperire temperatura din biloane a marcat o uşoară creştere (la 17°C), iar cea a localului s-a menţinut la 13°C.

La un interval de 25 zile de la acoperire şi 48 zile de la însămînţare, s-au făcut observaţii asupra apariţiei miceliului şi butonilor de fructificare, apreciindu-se frecvenţa prin note de la + la 4, + = cîteva pete de miceliu sau cîţiva butoni, 1 = 1/4 din varianta acoperită cu butoni, iar 4 = toată varianta acoperită, rezultatele fiind prezentate în tabelul 2.

Cea mai redusă apariţie a miceliului şi butonilor de fructificare reiese că s-a obţinut la V_1 şi V_7.

Datele privind începutul recoltării ciupercilor în funcţie de data însămînţării şi acoperirii, precum şi cantitatea în grame/mp rezultată din prima recoltare, sînt prezentate în tabelul 3.

Din datele tabelului 3 reiese că primele recoltări au avut loc în acelaşi timp la variantele 2 ; 3 ; 4 şi 5. Varianta 1 a fost cea mai tîrzie, iar variantele 6 şi 7 cele mai precoce. Se pare că grosimea mai mică a stratului acoperitor contribuie la întîrzierea obţinerii ciupercilor, iar mai mare la obţinerea lor mai timpurie.

În ceea ce priveşte producţia în g/mp la prima recoltare se constată că aceasta manifestă o creştere începînd de la straturile acoperitoare în grosime de 1—2,0 cm şi apoi o scădere simţitoare.

Temperatura localului de cultură la începutul producţiei, a fost de 14—15°C, iar higroscopicitatea 96—100%.

Tabel 3

Varianta	Data primei recoltări	Interval (zile) de la		Producţia la prima recoltare g/mp
		însămînţare	acoperire	
V_1 — 0,5 cm	5. VI	60	47	80
V_2 — 1,0 „	31. V	54	31	312
V_3 — 1,5 „	31. V	54	31	892
V_4 — 2,0 „	31. V	54	31	788
V_5 — 2,5 „	31. V	54	31	462
V_6 — 3,0 „	29. V	52	30	325
V_7 — 3,5 „	29. V	52	30	201

Producţia de ciuperci, în general are valuri de creştere care pot ocupa o perioadă de 6—12 săptămîni, în funcţie de tulpina (sortul) miceliului folosit, temperatura localului şi calitatea substratului şi amestecului de acoperire.

În experienţa întreprinsă factorul variabil a fost grosimea amestecului de acoperire. Un val de creştere poate cuprinde 1—6 recoltări, fiind urmat de o perioadă de stagnare a producţiei, în timpul căreia miceliul ciupercii îşi reîncepe dezvoltarea întreruptă în timpul fructificării, extinzîndu-se în substrat pentru a forma noi corpuri fructifere.

Pentru caracterizarea fiecărei variante s-au analizat îndeaproape producţiile pe val de creştere. Producţiile variantelor s-au desfăşurat în 3—5 valuri de creştere, cu un număr diferit de recoltări, situaţia producţiei pe valuri de creştere în g/mp şi a numărului de recoltări la fiecare val, fiind redată în tabelul 4.

Tabel 4

Situaţia producţiei pe valuri de creştere

Varianta	Valul de creştere (g/mp) şi numărul de recoltări											Producţia totală %
	I	Nr*)	II	Nr.	III	Nr.	IV	Nr.	V	Nr.	kg/mp	
V_1 — 0,5 cm	1 326	5	950	4	346	4	—	—	—	—	2,622	42,3
V_2 — 1,0 „	1 659	4	1 470	3	1 083	2	695	4	362	2	5,269	85,1
V_3 — 1,5 „	2 389	3	1 570	2	1 102	3	470	5	—	—	5,531	89,3
V_4 — 2,0 „	1 736	5	1 921	4	1 233	2	1 125	6	175	2	6,190	100
V_5 — 2,5 „	2 030	5	1 607	2	1 202	2	568	3	303	2	5,710	92,2
V_6 — 3,0 „	1 442	4	1 902	4	1 098	2	993	7	35	1	5,470	88,2
V_7 — 3,5 „	1 707	4	1 550	2	1 067	2	598	3	135	1	5,057	81,6

*) Nr. = număr recoltări executate pe val de creştere

Din datele expuse în tabelul 4 rezultă că V_1 a prezentat numai 3 valuri de creştere spre deosebire de majoritatea variantelor la care au existat cîte 5 valuri de creştere. In cadrul primului val de creştere, valorile cele mai ridicate ale producţiei s-au înregistrat la V_3 şi V_5 iar cel mai mare număr de recoltări l-a prezentat V_4 şi V_5.

În cursul celui de al doilea val de creştere producţia variantelor 4 şi 6 se menţine ridicată spre deosebire de valul 3 unde cele mai mari producţii s-au realizat la V_4 şi V_5.

După 3 valuri de creştere se observă o scădere simţitoare a producţiei, excepţie făcînd varianta 4 unde producţia continuă să se menţină ridicată chiar şi la cel de al 4-lea val de creştere (1,125 g/mp). Tot la V_4 se poate constata că valurile de creştere au înregistrat, în comparaţie cu celelalte variante, cele mai ridicate valori ale producţiei. În general cea mai ridicată producţie (6,190 kg/mp) s-a înregistrat la V_4. Producţii scăzute, reprezentînd 81,6% faţă de V_4, socotită ca martor, s-au înregistrat la V_7 şi V_1 (42,3%).

Rezultă deci că în condiţii de fort, fără încălzire tehnică producţia totală este direct proporţională cu grosimea stratului acoperitor pînă la 2 cm şi apoi invers proporţională.

Un alt factor care contribuie la caracterizarea variantelor alese este succesiunea valurilor de creştere exprimată prin durata în zile a producţiei la fiecare val de creştere şi perioada neproductivă dintre valuri (intervalul dintre valuri). Intervalul de timp dintre valurile de creştere indică formarea butonilor de fructificare ai viitorului val şi cu cît este mai redus, cu atît producţia este mai continuă (tabel 5).

Tabel 5

Succesiunea valurilor de creştere (zile)

Varianta	I	iv*)	II	iv	III	iv	IV	iv	V	Total perioada recoltare (zile)
V_1 — 0,5 cm	6	9	7	8	15	—	—	—	—	45
V_2 — 1,0 „	6	6	8	10	2	9	4	6	3	54
V_3 — 1,5 „	3	10	2	9	5	10	11	—	—	50
V_4 — 2,0 „	9	4	7	7	2	8	18	6	2	63
V_5 — 2,5 „	10	3	6	9	3	8	12	7	3	61
V_6 — 3,0 „	3	7	5	14	3	10	15	7	2	66
V_7 — 3,5 „	7	6	2	14	2	9	5	9	2	56

*) iv = interval în zile dintre valuri

Analizînd datele tabelului 5 se constată că cel mai redus interval de timp dintre valurile de creştere a fost la V_4 şi V_5 făcînd astfel posibilă asigurarea unei producţii cît mai continuie. La variantele 6 şi 7 care au avut cel mai gros strat, intervalul dintre valuri este mai lung în comparaţie cu variantele 1 ; 2 şi 3 care au avut stratul de acoperire mai subţire. Cele mai lungi intervale de timp dintre valurile de creştere s-au înregistrat între cel de al doilea şi al treilea val. Aceasta se explică prin faptul că în timpul primelor două valuri de creştere, pe o perioadă de 15—24 zile, s-au realizat producţii cuprinse între 2,276 kg/mp la V_1 şi 4,209 kg/mp la V_3, producîndu-se astfel o slăbire a activităţii miceliului ciupercii, prin consumarea rezervei de substanţe nutritive acumulate pentru formarea corpurilor fructifere.

Calitatea ciupercilor a fost în general diferită de la variantă la variantă. Ciupercile recoltate din V_1 prezentau un diametru şi o greutate mai mică decît cele recoltate din variantele 6 şi 7, care erau mai mari şi mai compacte. Variantele 3 ; 4 şi 5 au ocupat poziţii medii.

La toate variantele fructificarea a avut loc la suprafaţa stratului acoperitor, nu şi în interiorul acestuia.

Ciuperci cu valoarea comercială ridicată (picior scurt şi gros, pălărie cărnoasă) s-au obţinut la majoritatea variantelor în cadrul primelor valuri de creştere, spre deosebire de următoarele valuri (excepţie făcînd V_4 unde calitatea ciupercilor a continuat să se menţină şi în timpul celui de al 3-lea şi al 4-lea val de creştere).

CONCLUZII

1. Grosimea stratului acoperitor de 2,0 cm a permis obţinerea celei mai ridicate şi continue producţii de ciuperci în primele 4 valuri de creştere.

2. Cele mai reduse intervale de timp dintre valurile de creştere au fost puse în evidenţă la V_4 (2 cm grosime strat acoperitor).

3. Cea mai ridicată producție totală s-a realizat la variantele 4 și 5 (2 și 2,5 cm grosimea stratului acoperitor).

4. Producția totală crește progresiv cu grosimea stratului acoperitor pînă la 2,0 cm și apoi scade pe măsura creșterii grosimii acestui strat.

BIBLIOGRAFIE

1. — *Alexander, T.M.U.:* Using pest as a casing medium Com. Gr. 1953, 1948, 1243—1244 Rev. App. Myc. 1953, XXXII, 9
2. — *Bukowski, T.:* Uprawa pieczarek na Wegrzech Przegl., Ogrod., XXXII (1955), 8, 21—22. Warszawa.
3. — *Bukowski, T.:* Nové problému pri pestovàni pečarek Ceska Mycologie 7, 1953, 1, 1—8.
4. — *Bulboacă M.:* Cultura ciupercilor Ed. agro-silvică 1956.
5. — *Cermîh, L.:* Vîrascivanie șampinionov v kamenolomniah Ovoșcevod 1958, 12 19—21
6. — *Darlington, R. G.:* Mushroom growing on trays Food. Manufacture 29 (1954), 9, 343—347
7. — *Delmas, J.:* Un optique nouvelle en matiere de culture du champignon de couche Revue horticole 1961, nov.—dec. nr. 244
8. — *Dielingen-Becker, J.:* Handbuch des gesamten Gemüsebanes Ed. VI Paul Parey Berlin 1956, 735—746
9. — *Gromov, N. G.:* Vîrascivaite șampinionî Moskva 1956
10. — *Gromov, N. G.:* Vîrascivanie șampinionov Ovoșcevod 28 (1959), 7, 24—26
11. — *Gromov, N. G.:* Znacenie șostava grunta v urojainosti șampinionov Sad i ogorod 1956, 9.
12. — *Hünte, W.:* Champignon anbau im Haupt und Nebenerwerb Ed. Paul Parey Berlin S. W. 1952
13. — *Lachaume, J., Bellair, G.:* Champignons de couche 13 Ed. la Maison rustique Paris 1957
14. — *Lambert, E. B.:* Mushroom growing in the United States Washington D.C. 1955 Farmers Bull. 1875
15. — *Lehmann, E.:* Doppelte Ausmutzung des Stalldüngens durch Champignonzucht Die Deutsche Landwirschaft 3 (1952), 7, 369—377
16. — *Lambert, E. B., Ayers, T. T.:* An improved system of mushroom culture for a better control of diseases. Plant. Dis. Rep. 1952, 36, 7 : 261—268
17. — *Löbl, D., Partenie Ștefan:* Cultura ciupercilor în sere la Combinatul agro-alimentar „30 Decembrie" Grădina via și livada 1958, 2
18. — *Marcov, U. A., Antonioni, U. I.:* Kulitura șampinionov V Stalii Sad i ogorod 1956, 1, 33—34.
19. — *Mateescu N., Marchidan, D.:* Pămînturi de acoperire folosite în cultura ciupercii comestibile Grădina via și livada 1959, 11, 17—20
20. — *Marchidan, D., Mateescu N.:* Influența îngrășămintelor minerale asupra culturii ciupercii comestibile Grădina via și livada 1960, 12, 9—13
21. — *Panov, M. A.:* Vîrascivanie șampinionon Moskva 1956
22. — *Rasmussen, Riber:* Notre record mondial des cultiv. de champignon Bull, de la Fed. Nat. de Synd. Agric. 1961—III—3475—3480
23. — *Tarasov, U. A.:* Vîrascivanie șampinionov v tepliţah sovhoza, Sad i ogorod 1957, 9, 25—27

venţa atacului. Variantele astfel calculate au valori diferite, însă păstrează aceeaşi ordine de clasificare ca şi în primul caz (tabel 3).

Cea mai bună variantă, atît ca frecvenţă minimă de atac (12,9%) şi ca producţie (125,6% faţă de martor) este V_1.

Este necesar însă să amintim că din punct de vedere calitativ această variantă este inferioară celorlalte, întrucît prin recoltarea timpurie se acumulează în strugure un procent mai mic de zahăr. Varianta cea mai slabă este V 6, cu o frecvenţă, a atacului de 54,9% şi cu o producţie de 79,8% faţă de martor.

Tabel 3

Varianta	Frecvenţa atacului %			Greutatea (g)			
	Boabe sănătoase	Boabe cu putregai nobil	Boabe cu putregai cenuşiu	Boabe sănătoase	Boabe cu putregai nobil	Boabe cu putregai cenuşiu	Boabe în amestec
V1	87,1	7,5	5,4	1 597	61	57	1 715
V2	78,5	8,2	13,3	1 440	66	141	1 647
V3	78,6	4,6	16,8	1 442	37	178	1 657
V4	67,3	1,5	31,2	1 234	12	330	1 576
V5	76,3	5,5	18,2	1 399	44	193	1 636
V6	45,1	8,9	46,0	827	72	487	1 386
Martor	59,3	4,3	36,4	1 087	35	385	1 507

Dintre tratamentele chimice, cele mai bune rezultate le-a dat zeama bordeleză 1% + bisulfit de sodiu 0,5%, unde la V 3 frecvenţa de atac a fost de 21,4% şi o producţie cu 19% mai mare ca martorul, urmată de V2 stropită cu zeamă bordeleză 3%, care a dat un plus de producţie de 14,1% faţă de martor. Tratamentul cu argilă 2,5% + bisulfit de sodiu 0,5% la V4 s-a comportat destul de slab, varianta fiind clasificată pe locul 5.

La V5, unde s-a făcut desfrunzitul în jurul ciorchinilor cu o lună înainte de recoltare, sporul de producţie a fost de 13,7% faţă de martor, clasîndu-se pe locul 4. Această metodă de combatere nu este deosebit de eficace şi ea confirmă în parte confruntarea datelor meteorologice, anume că asigurarea unei umidităţi scăzute nu micşorează vizibil intensitatea atacului. În plus, ea este destul de migăloasă şi în consecinţă costisitoare, necesitînd, după cronometrările făcute, cca. 10 z.o. la ha. Din punct de vedere biologic, desfrunzitul în jurul ciorchinilor prezintă şi dezavantajul că se produce rănirea organelor viţei de vie şi împiedică parţial o normală maturare a coardelor.

Eficacitatea tratamentelor chimice este în general mulţumitoare la V2 şi V3, însă ea trebuie îmbunătăţită prin experimentarea unor fungicide recent fabricate ca: Lutiramul, Carbadinul, Pomersolul ş.a., prin a căror aplicare este posibil să se obţină noi progrese în combaterea putregaiului cenuşiu. De asemenea, va fi importantă o îmbunătăţire a aderenţei fungicidelor pe suprafaţa boabelor tratate.

CONCLUZII

1. Condiţiile de climă nu influenţează în mod hotărîtor frecvenţa şi intensitatea atacului. Rezultă deci că este posibil ca putregaiul cenuşiu al strugurilor să apară cu regularitate şi în anii următori.

2. Principalii factori care favorizează extinderea bolii, în ordinea importanței lor, sînt: sensibilitatea soiurilor (soiuri sensibile: Roșioară, Negru moale); traumatismele produse prin spulberările firelor de nisip și perforările boabelor de către larvele moliei strugurilor.

3. Din variantele experimentate, cele mai mari producții le-au dat V1 și V3.

4. Întrucît tratamentele contra putregaiului cenușiu al strugurilor constituie o problemă actuală și insuficient clarificată, este necesar de găsit pe viitor noi metode de combatere, mai ales în direcția stabilirii unor fungicide cu eficacitate superioară.

NOI VIROZE ALE POMILOR

Prof. E. DOCEA, ing. I. POP și E. FRĂȚILĂ
Institutul agronomic „N. Bălcescu"

În urma cercetărilor și observațiilor executate în diferite țări s-au descoperit pînă acum un număr însemnat de viroze la pomi (Canova-1958, Klinkowski-1958, Nemeth 1961, Smith 1956). Importanța mare care se acordă în prezent acestor boli se explică prin aceea că o dată pomii infectați, agentul patogen nu mai poate fi distrus, creșterea și fructificarea plantelor fiind an de an diminuată.

Unele viroze duc la necrozarea diferitelor părți din aparatul vegetativ al pomilor, ceea ce face imposibilă livrarea acestora de către unitățile producătoare. Anumite viroze ale pomilor nu produc simptome externe decît în anumite faze de creștere, sau numai la anumite soiuri, cu toate acestea producția și dezvoltarea plantelor poate fi simțitor diminuată.

Pericolul răspîndirii virozelor la pomi este foarte mare, datorită schimbului masiv de material săditor care are loc între diferite țări. De aceea, este un merit deosebit al cercetătorilor care lucrează în acest domeniu relativ tînăr al virologiei, că au reușit să elaboreze într-un timp scurt un sistem de măsuri practice, care permite obținerea de material săditor liber de viroze și previne răspîndirea acestor boli atît în interiorul țării cît și peste hotare.

Colaborarea internațională în legătură cu studiul și elaborarea măsurilor practice de combatere a virozelor pomilor este foarte bine organizată. Pentru a ilustra acest fapt, este suficient să amintim simpozioanele internaționale, care se țin în legătură cu virozele pomilor la intervale de 2 ani.

La noi în țară, cercetările privind virozele pomilor și măsurile practice care se iau pentru prevenirea răspîndirii lor, sînt încă la început. Ele vor trebui extinse și îmbunătățite în viitor, pentru a corespunde avîntului mare al pomiculturii noastre în anii de democrație populară.

Pînă în prezent, dintre virozele pomilor cunoscute în alte țări au fost identificate la noi următoarele: plum-poxul la prun, cais, zarzăr și mirobolan, mozaicul în formă de benzi la piersic și prun, mozaicul mărului, proliferarea mărului și împietrirea fructelor de păr (Docea 1959, Pop 1958, Pop 1962, Săvulescu și Pop 1961).

Avînd în vedere că baza măsurilor de prevenire a răspîndirii virozelor pomilor constă în identificarea plantelor bolnave și eliminarea lor din procesul de înmulțire, în lucrarea de față descriem simptomele unor viroze observate de noi în ultimii ani în țara noastră.

Mozaicul părului, produs de virusul *Annulus pyri* Christoff a fost observat în anul 1961 pe mai mulți peri în vîrstă de 10—20 de ani din comuna Hopîrta, raionul Aiud, regiunea Cluj. În pepinierele cercetate pînă acum, viroza nu a fost observată.

Boala se manifestă prin apariția pe suprafața frunzelor a unor pete inelare, sau de formă ovală, mari de 0,5—1 cm în diametru. Petele au o culoare verde deschis sau gălbuie și sînt mai evidente pe fața superioară a frunzelor. Uneori, în loc de pete inelare se formează linii sau benzi, late de 1—2 mm (fig. 1). Prin unirea acestora, iau naștere pete, linii, sau benzi de diferite forme și mărimi. Majoritatea frunzelor manifestă aceste simptome începînd din mai pînă la sfîrșitul perioadei de vegetație. Dezvoltarea generală a pomilor și fructificarea acestora este puțin afectată. De asemenea virusul nu produce simptome pe fructe.

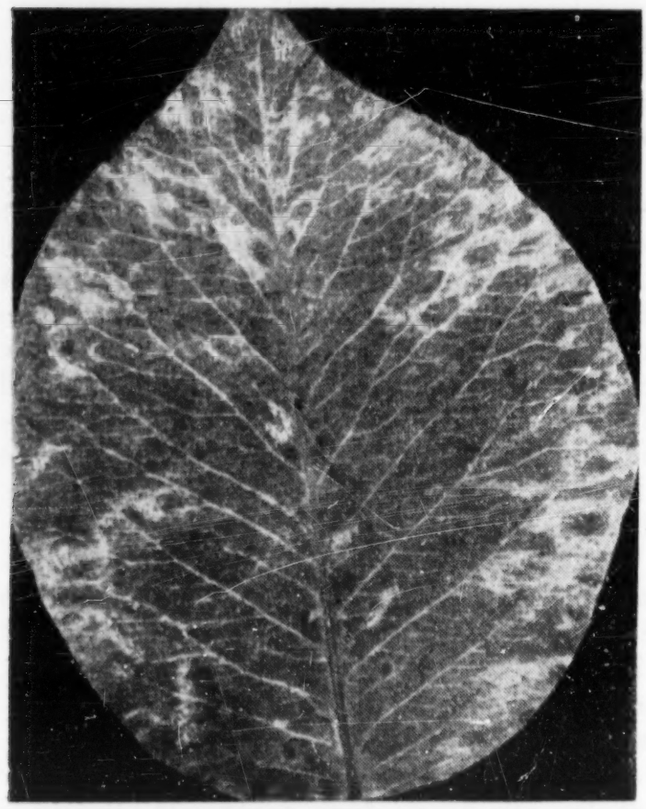


Fig. 1 — Frunză de păr cu simptome de mozaic

Fig. 2 — Frunză de *Cydonia japonica* Lindl., cu simptome de mozaic

Pînă acum această viroză a fost semnalată în mai multe țări din Europa.

Transmiterea virusului are loc prin altoire. Pentru a împiedica extinderea acestei viroze la noi în țară, recomandăm alegerea cu atenție a plantelor mamă furnizoare de altoi și eliminarea din pepiniere a puieților infectați. Deoarece boala se manifestă totdeauna prin simptome externe evidente, pentru identificarea pomilor bolnavi este suficientă examinarea lor cu ochiul liber *în timpul perioadei de vegetație.*

Mozaicul gutuiului japonez. A fost observat de asemenea pe mai multe tufe de *Cydonia japonica Lindl.*, din comuna Hopîrta, raionul Aiud.

Pe suprafaţa frunzelor plantelor infectate se observă pete, benzi, sau inele de formă mai mult sau mai puţin regulată, de culoare verde deschis sau gălbuie, care în alternanţă cu ţesuturile de culoare normală dau frunzelor un aspect mozaicat (fig. 2). Petele sînt de obicei mai evidente pe faţa superioară a frunzelor.

La această specie ornamentală nu s-a semnalat pînă în prezent boli de natură virotică. De asemenea ea nu este citată ca plantă gazdă a virozelor cunoscute pînă acum la pomi. De aceea identificarea virusului ce produce aceste simptome necesită cercetări amănunţite.

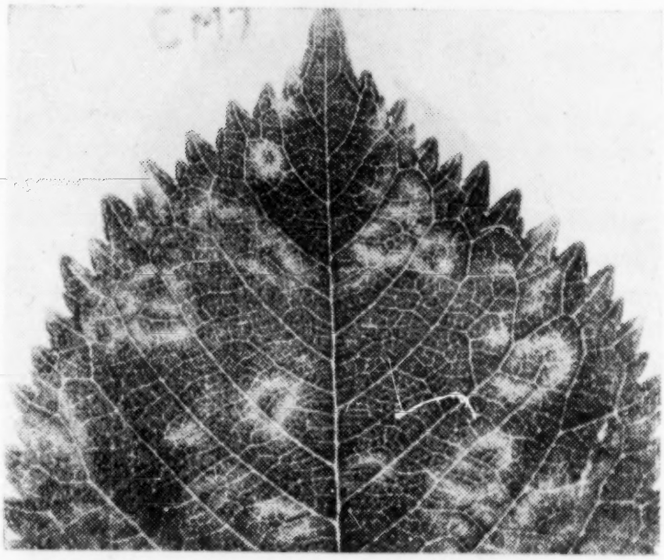


Fig. 3 — Pătarea inelară a cireşului. Frunză de cireş, soiul „Cea mai timpurie"

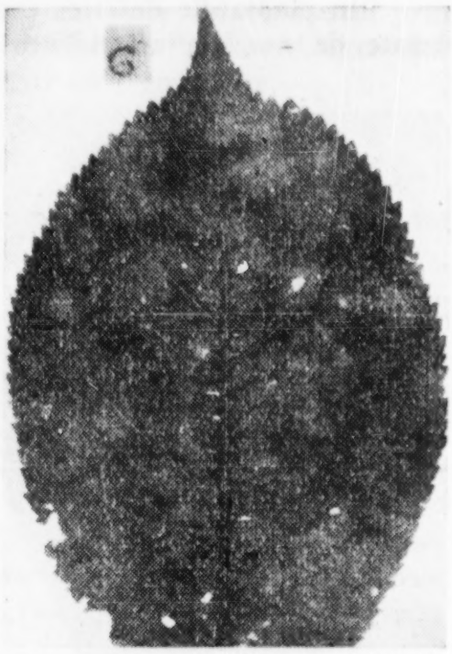


Fig. 4 — Pătarea inelară a cireşului. Frunză de cireş, soiul Germersdorf

Pătarea inelară a cireşului, produsă de virusul *Nanus pruni* var, *annulorum* Christoff, a fost observată în primăvara anului 1961 în pepiniera Fermei experimentale a Institutului agronomic „N. Bălcescu" de la Băneasa Bucureşti, pe pomi altoiţi în vîrstă de 2 ani, din soiurile Cea mai timpurie şi Germersdorf, în pepiniera Istriţa (raionul Mizil) pe soiurile Cea mai timpurie, Germersdorf şi Pietroase de Cotnari şi în pepiniera Cîndeşti (raionul Buzău) pe soiurile Napoleon, Tîrzii de mai şi Pietroase de Cotnari.

La Ferma Băneasa, cel mai mare procent de infecţie (37%), s-a găsit la soiul Cea mai timpurie, iar soiul Germersdorf a fost mai puţin atacat (8%). În pepinierele Istriţa şi Cîndeşti, procentul pomilor infectaţi a fost de 20—30% la soiul Napoleon, 15—20% la soiul Pietroase de Cotnari şi de 5—10% la soiurile Cea mai timpurie, Tîrzii de mai şi Germersdorf (fig. 3).

În unele cazuri, simptomele apar sub forma unor pete inelare bine conturate, mari de 0,5—1 cm în diametru, de culoare verde deschis (fig. 3). În alte cazuri, boala se manifestă prin pete de culoare verde deschis, de formă mai mult sau mai puţin rotundă şi cu marginea difuză (fig. 4). Boala se poate manifesta de asemenea şi sub formă de benzi situate pe ţesuturile dintre nervurile secundare. Pe portaltoi, simptomele sînt mai evidente decît pe soiurile ameliorate şi se caracterizează tot prin pete inelare de diferite mărimi (fig. 5).

Simptomele apar la început numai pe frunzele de pe lemnul în vîrstă de 2 ani, iar mai tîrziu devin evidente şi pe frunzele lăstarilor în curs de creştere.

Într-un stadiu mai avansat, porţiuni mici de ţesut din cadrul petelor de culoare verde deschis se necrozează. Mai tîrziu, acestea se separă de restul suprafeţei limbului şi cad. (fig. 3).

În plantaţiile de cireş cercetate de noi, nu am identifi-

Fig. 5 — Pătarea inelară a cireşului. Frunză de portaltoi (Prunus avium)

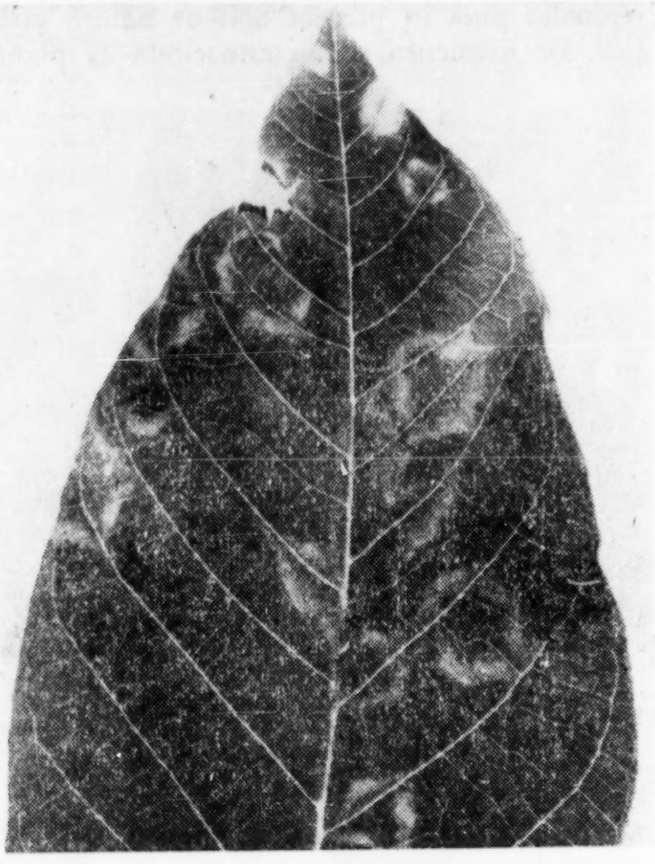


Fig. 6 — Simptome de pătare inelară pe frunza de nuc

cat pînă acum prezenţa acestei viroze. Este foarte posibil că aceasta se datoreşte mascării simptomelor de către plantele mature.

În afară de cireş, virusul mai poate infecta vişinul, piersicul, caisul, Prunus mahaleb, P. cerasifera şi P. amygdalus.

Virusul se transmite prin altoire, oculare şi sămînţa recoltată de la cireşii, piersicii şi plantele de Prunus mahaleb infectate. De asemenea, virusul poate fi transmis relativ uşor prin inocularea de suc la castraveţi şi la alte plante ierboase. Insecte capabile să transmită acest virus nu se cunosc.

Din observaţiile făcute pînă în prezent, rezultă că această viroză (prima identificată la cireş în ţara noastră) este foarte răspîndită în pepiniere.

Deoarece virusul se găseşte pe pomii maturi, adesea în stare latentă, în vederea obţinerii pomilor liberi de acest virus, este necesară testarea plantelor mume furnizoare de altoi. Testarea constă în altoirea fiecărei plante mume pe cîte 5 seminceri de Prunus avium, sau puieţi de piersic în vîrstă de un an. Plantele mume găsite infectate în urma testării, vor fi eliminate din procesul de înmulţire. De asemenea, este necesar un control sistematic al pepinierelor, în vederea identificării şi eliminării pomilor altoiţi, care prezintă simptomele acestei

viroze. Pentru ca aceste măsuri să poată fi legiferate, este necesar ca virusul să fie trecut pe lista paraziților de carantină.

În încheiere, menționăm faptul că în primăvara acestui an, am observat de asemenea pe mai mulți nuci din București, Istrița (raionul Mizil) și Sătuc (raionul Buzău), simptomele unei boli noi pentru țara noastră. Acestea sînt foarte asemănătoare cu simptomele produse de virusuri la pomi și se caracterizează prin inele de culoare verde deschis, mari de 0,4—1,5 cm/fig. 6). Precizarea agentului patogen ce produce aceste simptome, necesită cercetări de transmitere.

BIBLIOGRAFIE

1. *Canova, A.:* Le virosi delle piante da frutto, Frutticoltura, Nr. 20, p. 341—358, 1958
2. *Docea, E.:* O viroză a sîmburoaselor semnalată în țara noastră, Grădina, via și livada, Nr. 6, p. 53—65, 1959
3. *Klinkowski, M.:* Pflanzliche Virologie, Berlin 1958
4. *Németh, U. M.:* A gyümölcsfák virusbetegségei, Budapest 1961
5. *Németh, U. M.:* Obstvirosen und ihre Bekämpfung in der Ungarischen Volksrepublik. Referat la conferința de Virusuri și Viroze, Berlin 1961
6. *Pop, U. I.:* O viroză păgubitoare a sîmburoaselor din R.P.R. Grădina, via și livada, nr. 10, p. 46—48, 1958
7. *Pop, U. I.:* Principalele viroze ale plantelor în R.P.R., Probleme de biologie (sub tipar)
8. *Săvulescu, A. și I. Pop:* Data regarding virus disease of fruit-trees in the Roumain Peoplés Republic. Referat la sympoziumul despre virozele pomilor ținut la Lyngby 25—30 iulie 1960
9. *Stout, G. L.:* Development, certification, and maintenance ov „Virus-Free" nursery Stock. Referat la sympoziumul despre virozele pomilor ținut la Lyngby 20—25 iulie 1960

THE PERIOD OF LOAN WILL NOT BE EXTENDED

This document should be returned to:

LOANS DEPARTMENT,
NATIONAL LENDING LIBRARY FOR
SCIENCE AND TECHNOLOGY,
BOSTON SPA,
YORKSHIRE.

not later than the last date shown below, using the label provided

Req. No.	Return Date	Req. No.	Return Date
NLB 1773	-6. DEC. 1962		

In any correspondence regarding this loan please quote the requisition number and return date as shown above.

Wt. 15951/238603 10m JAJLtd/232/860/6/62—B

615.779

АКАДЕМИЯ НАУК УКРАИНСКОЙ ССР
ИНСТИТУТ МИКРОБИОЛОГИИ им. АКАДЕМИКА Д. К. ЗАБОЛОТНОГО

Imanin ⊛ - an antibiotic from St. John's wort (Hypericum perforatum.)

ИМАНИН –
АНТИБИОТИК ИЗ ЗВЕРОБОЯ

D. S. I. R.
NATIONAL LENDING LIBRARY
FOR SCIENCE AND
TECHNOLOGY
16 FEB 1962
R. 22806

D. S. I. R.
National Lending Library
for Science and
Technology.

⊛ Imanin is a new antibiotic compound.

43.

ИЗДАТЕЛЬСТВО АКАДЕМИИ НАУК
УКРАИНСКОЙ ССР
КИЕВ — 1961

615.9
И-50

Сборник содержит ряд статей об иманине — новом антибиотическом препарате из зверобоя. В нем приведены данные об иманине, его действии на некоторые физиологические системы человека и животных, на вирус табачной мозаики и на само растение табака, об эффективности его применения в клинике и о химической природе биологически активных веществ зверобоя.

Сборник рассчитан на врачей, микробиологов, занимающихся изысканием новых антибиотиков, химиков, изучающих антибиотики, и специалистов сельского хозяйства.

Ответственный редактор
академик АН УССР *В. Г. Дроботько*

Печатается по постановлению ученого совета Института микробиологии им. Д. К. Заболотного Академии наук Украинской ССР

Редактор издательства *Л. П. Брагинский*

Технический редактор *А. А. Матвейчук* Корректор *И. С. Доманская*

БФ 15551. Зак. № 683. Изд. № 175. Тираж 2000. Формат бумаги 60×92¹/₁₆. Печ. физ. листов 6 + 1 вкл. Условн. печ. листов 6,125. Учетно-изд. листов 5,5. Подписано к печати 29.III 1961 г. Цена 28 коп.

Типография Издательства АН УССР, Львов, Стефаника, 11.

ПРЕДИСЛОВИЕ

В 1954 г. Институт микробиологии АН УССР передал в практику антибиотический препарат иманин, полученный из зверобоя пронзеннолистного. Этот препарат нашел применение преимущественно в тех случаях, когда требовалось вызвать ускоренную регенерацию поврежденных тканей, например, при глубоких и широких ожогах. С тех пор изучение и испытание иманина продолжалось. Прежде всего химики попытались подойти к выяснению химической природы действующих начал зверобоя, и это им в известной мере удалось. Ими получены препараты, превосходящие иманин по силе бактериостатического действия в десять и больше раз благодаря удалению значительной части балластных примесей.

Почти всякий антимикробный препарат обладает в то же время и фармакологическими свойствами. Фармакологические свойства иманина изучались рядом авторов, и, естественно, они представляют интерес для практических врачей. Знание этих свойств, вероятно, поможет расширить показания к применению иманина. Такое расширение имеет место и сейчас. Как свидетельствуют представленные в сборнике статьи, иманин испытывался с положительными результатами в виде аэрозолей при заболевании верхних дыхательных путей, в офтальмологической практике и, далее, в сельском хозяйстве для борьбы с вирусной мозаикой табака.

Все это позволяет надеяться, что иманин привлечет к себе еще большее внимание практических работников, тем более что в ближайшем будущем Институт микробиологии АН УССР имеет в виду предложить вместо прежнего иманина очищенный препарат из зверобоя — «новоиманин», обладающий более выраженными антимикробными свойствами.

АНТИМИКРОБНЫЕ ВЕЩЕСТВА ЗВЕРОБОЯ ПРОНЗЕННОЛИСТНОГО

(*Hypericum perforatum* L.)

Н. А. ДЕРБЕНЦЕВА

Институт микробиологии АН УССР

Зверобой пронзеннолистный — один из представителей многочисленного семейства зверобойных (Hypericaceae) — широко известен в медицине как лекарственное средство, обладающее ценными фармакологическими свойствами (вяжущие, тонизирующие, диуретические и др.). Вместе с тем современная медицина располагает большим материалом о благоприятном действии настоев и экстрактов из зверобоя на регенерацию тканей, заживление инфицированных ран и лечение некоторых воспалительных процессов. Кроме того, зверобойное масло *, а также экстракты из травы зверобоя в смеси с различными кремами и пластификаторами в ряде стран применяются в лечебной косметике.

Эти стороны практического использования зверобоя послужили основанием к постановке вопроса об изучении антибактериальных свойств этого растения.

Способность зверобоя подавлять рост некоторых микроорганизмов впервые установил Осборн (1943). Нейвальд и Хагенстром (1954) испытывали антибактериальную активность зверобойного масла, приготовленного по правилам немецкой фармакопеи ДАВ-6, а также экстрактов, полученных с помощью органических растворителей из цветущих растений и зрелых коробочек зверобоя пронзеннолистного, по отношению к золотистому стафилококку, кишечной и тифозной палочкам и установили, что исследуемые вещества по отношению к последним двум видам бактерий совершенно неактивны; однако все они,

* Зверобойным маслом называется вещество, извлеченное из травы зверобоя с помощью прованского масла или рыбьего жира.

за исключением зверобойного масла, в большей или в меньшей степени подавляют рост золотистого стафилококка (в среднем в разведении 1 : 50—1 : 200). Исключение составил ацетоновый экстракт из зрелых коробочек зверобоя, который действовал на золотистый стафилококк № 511 в разведении 1 : 200 000 бактериостатически и 1 : 20000 — бактерицидно.

Польские исследователи Августовская, Качмарек и Павляк (1958) изучали антибактериальную активность экстрактов спелых околоплодников зверобоя пронзеннолистного. В их опытах эфирные и спиртовые экстракты были неактивны, ацетоновый экстракт оказал бактериостатическое действие на золотистый стафилококк № 209, гемолитический стрептококк и тифозную палочку в разведении 1 : 400, на желтую сарцину и дизентерийную палочку Флекснера — в разведении 1 : 800, на холерный вибрион — в разведении 1 : 3200 бактериостатически и 1 : 800 бактерицидно.

Антибактериальные свойства зверобоя пронзеннолистного в период онтогенеза исследовали Фелкова и Странский (1957). Максимальная активность обнаружена ими в период цветения и созревания растений. Антибактериальным действием обладали спиртовые экстракты зверобоя. Действие это было более выражено по отношению к золотистому стафилококку и гемолитическому стрептококку и менее выражено — к протею и кишечной палочке. Вопрос о природе носителя антибактериальных свойств авторами решен не был.

Антимикробные свойства зверобоя пронзеннолистного, произрастающего на Украине, были исследованы еще в 1946 г. В. Г. Дроботько с сотрудниками (1954). Ими была установлена антимикробная активность водно-щелочных, спиртовых, эфирных и некоторых других экстрактов из травы зверобоя по отношению к ряду грамположительных микроорганизмов. Далее ими был получен и внедрен в производство антибактериальный препарат иманин, представляющий собой комплекс веществ, извлекаемых из травы зверобоя при кипячении ее с водной щелочью. Выход иманина составляет до 10% к весу воздушно-сухого растения. Антибактериальная активность иманина к золотистому стафилококку № 209 составляет 1 : 25 000—1 : 500 000. Клинические исследования иманина подтвердили его высокую эффективность при лечении тяжелых ожогов и гнойных ран. Иманин утвержден фармакопейным комитетом СССР как лечебный антибактериальный препарат.

При попытке изучить действующее начало иманина П. И. Киселем (1954) были выделены два вещества смолистой консистенции, обладающие антибактериальной активностью к золотистому стафилококку: первое — при разведении 1 : 500 000 (вещество № 2) и второе — при разведении 1 : 100 000 (вещество № 3). Вещество № 2 было получено при обработке эфирного экстракта иманина водной щелочью, вещество № 3 пред-

ставляло неизвлекаемый щелочью остаток. Оба вещества оказались очень нестойкими и быстро инактивировались, поэтому выделить составляющие их компоненты и изучить их химический состав не удалось.

С целью получения более активных и стойких препаратов в Институте микробиологии АН УССР Н. А. Дербенцевой, А. С. Рабинович, Б. Е. Айзенман, С. И. Зелепухой, Т. П. Мандрик и М. О. Швайгер (1959) был выделен и изучен комплекс веществ, извлекаемых из зверобоя пронзеннолистного органическими растворителями, в частности ацетоном. При последовательной обработке ацетоновых экстрактов травы и цветов зверобоя водными растворами бикарбоната натрия и натровой щелочи были выделены группы веществ кислотного, фенольного и нейтрального характера и установлено, что вещества фенольного характера, содержащиеся в цветах и листьях зверобоя в количестве 0,66% к весу воздушно-сухой травы, имеют очень высокую антибактериальную активность по отношению к грамположительным бактериям, проявляющуюся при разведениях 1 : 2 500 000—1 : 10 000 000.

Было также установлено, что сами ацетоновые экстракты из цветов и листьев зверобоя подавляют рост золотистого стафилококка и ряда других грамположительных бактерий при разведении 1 : 100 000—1 : 10 000 000.

Антибактериальная (бактериостатическая) активность определялась методом серийных разведений на мясопептонном бульоне (Рабинович, Айзенман и Зелепуха, 1959).

Таким образом, было показано, что зверобой пронзеннолистный *(Hypericum perforatum L.)*, произрастающий на Украине, обладает исключительно высокой антимикробной активностью к грамположительным бактериям. Вместе с тем была обнаружена активность зверобоя и к некоторым вирусам (Бобырь, 1959).

Антимикробная активность полученных из зверобоя веществ к грамотрицательным бактериям очень невелика: по отношению к кишечной палочке она проявляется при разведении 1 : 25 000 и совсем не проявляется по отношению ко многим другим бактериям этой группы.

Для подтверждения общности активного начала самого растения зверобоя пронзеннолистного и полученного из него препарата иманина нами было проведено исчерпывающее извлечение ацетоном аптечного иманина (серия 4258, выпуск 1959 г.).

Вещества, извлеченные из иманина ацетоном (в количестве 6,6%), подавляют рост золотистого стафилококка при разведении 1 : 1 000 000, в то время как активность самого иманина проявлялась лишь при разведении 1 : 250 000. Такую же активность имел иманин, полученный из травы зверобоя в лабораторных условиях. При получении иманина из растения, пред-

варительно проэкстрагированного ацетоном, препарат был полностью лишен антибактериальной активности.

С целью уточнения представлений о природе активных веществ иманина из ацетонового экстракта были выделены группы веществ кислотного, фенольного и нейтрального характера и установлено, что наиболее активными являются фенольные вещества, подавляющие рост золотистого стафилококка при разведении 1 : 2 500 000.

Таким образом, было подтверждено, что антибактериальный препарат иманин имеет в своем составе группу растворимых в ацетоне фенольных веществ с очень высокой антимикробной активностью к золотистому стафилококку и другим грамположительным бактериям; однако наличие в иманине значительных количеств (78,4 весовых процента) хлорофилла, дубильных веществ, неорганических элементов, продуктов гидролиза углеводов и т. п. значительно снижает антимикробную активность этого препарата в целом.

Широкому применению иманина препятствует нерастворимость его в воде и спирте. Водно-щелочные же растворы иманина, являющиеся его основной лекарственной формой, затрудняют его практическое использование; кроме того, они сохраняют антимикробную активность не более одной-двух недель.

С целью более широкого использования иманина путем увеличения его антибактериальной активности и растворимости в различных растворителях были внесены изменения в метод его получения. Вновь полученные из травы зверобоя препараты были названы их авторами — сотрудниками Института микробиологии АН УССР — иманином А и новоиманином.

I. *Иманин А*, по нашим данным (1960а), представляет собой комплексный препарат, полученный по методу, разработанному для выделения иманина, с той лишь разницей, что вместо водной щелочи была применена спиртовая щелочь той же концентрации. Препарат представляет собой вязкую массу темно-коричневого цвета, хорошо растворимую в спирте, ацетоне и др. органических растворителях. Выход его составляет 7—8% к весу воздушно-сухого растения; антибактериальная активность к золотистому стафилококку, дифтерийной палочке и возбудителю газовой гангрены проявляется при разведении до 1 : 10 000 000. Иманин А хорошо сохраняет свои антибактериальные свойства при хранении в темноте в течение нескольких месяцев.

II. *Новоиманин* — препарат, включающий комплекс веществ, извлекаемых из травы зверобоя экстракцией ацетоном с последующим удалением хлорофилла и красных пигментов путем обработки экстракта активированным березовым углем.

Препарат представляет собой желтую вязкую массу, хорошо растворимую в спирте, ацетоне и других органических растворителях. Выход — 3—4% к весу воздушно-сухого растения.

Антимикробная активность по отношению к золотистому стафилококку, дифтерийной палочке, возбудителю газовой гангрены и ряду других грамположительных бактерий проявляется при разведении 1 : 1 000 000—1 : 10 000 000 *. Препарат хорошо сохраняет свои свойства в течение длительного периода и не обладает светочувствительностью.

С целью переведения полученных препаратов в более доступную для практического применения воднорастворимую форму были использованы поверхностноактивные вещества, находящие широкое применение в технике и медицине для увеличения растворимости различных веществ.

При прибавлении поверхностноактивных веществ (ОП-10, ОС-20, сульфанола ИП-1) к иманину А и новоиманину последние приобретали воднорастворимую форму и не выпадали из водного раствора в течение долгого времени. Антимикробная активность этих препаратов от присутствия поверхностноактивных веществ не снижалась. Нагревание препаратов до 100°С и окисление кислородом воздуха при различных pH среды тоже не уменьшало их антимикробную активность. Однако при освещении препаратов солнечными лучами и электрическим светом (лампочка 75 *вт*) в течение 1—9 часов у иманина, иманина А и ацетонового экстракта зверобоя, не обработанного активированным углем, было отмечено резкое снижение антибактериальной активности (в 1000 раз), причем при воздействии солнечных лучей это снижение происходило очень быстро, в течение одного часа; электрический свет действовал медленнее, и активность падала в течение 3—9 часов. При этом красно-фиолетовая окраска ацетонового экстракта зверобоя переходила в пурпурно-красную, а темно-коричневый раствор иманина А в спирте становился сперва красным, а затем оранжево-желтым.

Новоиманин и фракция веществ фенольного характера, которые в процессе получения обрабатывали активированным древесным углем, при освещении солнечным и электрическим светом не снижали антибактериальной активности, и светло-желтая окраска спиртовых растворов этих препаратов при освещении не изменялась.

Освещение кварцем в течение 1—3 часов (ртутно-кварцевая лампа на 750 *вт*) не влияло на антибактериальную активность исследуемых препаратов. 1%-ный раствор иманина (серия 4258) в 0,1-н. водной щелочи, применяемый обычно в лечебной практике, при освещении солнечным светом в течение одного часа полностью терял антибактериальную активность. Опыты по изучению действия различных источников света на антибактериальную активность препаратов, полученных из зверобоя пронзеннолистного, проводились при температуре 23—25°, однако

---

* См. статью С. И. Зелепуха и П. Я. Починок в настоящем сборнике.

382

повышение температуры до 50—60° и применение в качестве растворителей хлороформа и метанола не оказало влияния на получаемые результаты: антибактериальная активность не обработанных углем препаратов падала в той же мере.

Таким образом, было показано, что наличие в составе зверобойных препаратов красящих веществ, адсорбируемых активированным углем, делает их неустойчивыми к действию световых лучей, под влиянием которых они теряют антибактериальную активность; препараты же, очищенные от красящих веществ при обработке активированным углем, устойчивы к действию света и сохраняют антибактериальную активность длительное время (Н. А. Дербенцева и др., 1960б).

Комплекс красящих веществ зверобоя, адсорбируемых, в основном, активированным углем, был выделен и изучен нами отдельно. Из травы зверобоя по методу Пейса и Макинея (1941) были выделены гиперицин (в количестве 0,2—0,3% от веса воздушно-сухого растения), квертицин (0,05%) и «красный пигмент» (в количестве 0,1%). Активность гиперицина к золотистому стафилококку проявлялась при разведении 1 : 10 000, квертицина — при разведении 1 : 5000, красный пигмент активностью не обладал.

Согласно данным ряда авторов, гиперицин, несмотря на отсутствие явно выраженных бактерицидных свойств, является давно известным фармакологически активным началом зверобоя.

В связи с этим изучению содержания гиперицина у различных представителей семейства зверобойных, а также его биосинтезу посвящено большое количество работ зарубежных, главным образом немецких, исследователей.

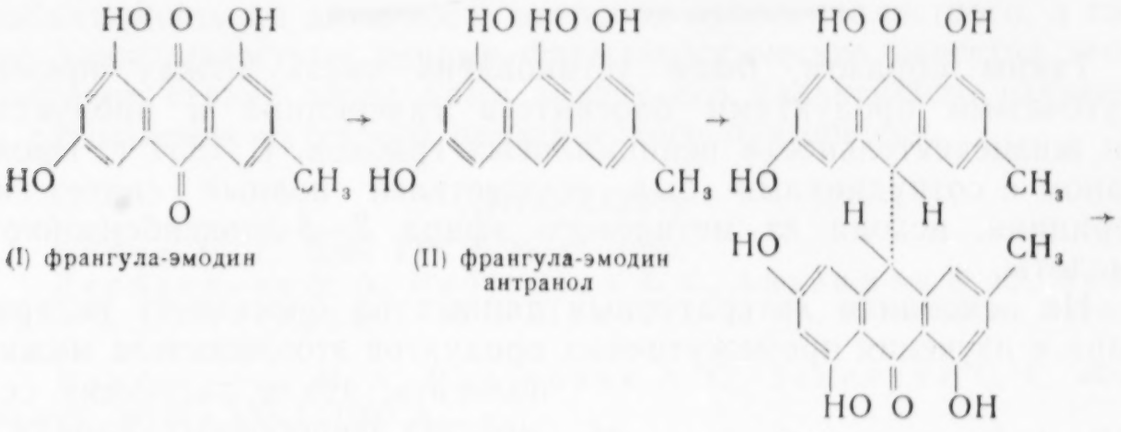
Впервые гиперицин был выделен в 1891 г. Дитерихом из листьев и цветов зверобоя в виде кристаллов темно-красного цвета, нерастворимых в воде, но хорошо растворимых в некоторых органических растворителях.

Строение этого вещества было доказано Брокманом с сотрудниками (1942).

Гиперицин относится к группе диантрахиноновых красителей общей формулой $C_{30}H_{16}O_8$ и является *4, 5, 7, 4′, 5′ 7′*-гексаокиси-*2-2*-диметилмезанафтодиатрон. Гиперицин — биологически активное вещество, вызывающее у светлошерстных животных заболевание, связанное с обменом веществ, называемое гиперицизмом.

В связи с большим значением гиперицина как фармакологически активного вещества зверобоя, Брокманом и его школой (1958) проведена большая работа по изучению биосинтеза гиперицина в растениях семейства зверобойных. Авторами приводятся доказательства того, что в растении синтез гиперицина осуществляется из франгула-эмодина через ряд промежуточных соединений.

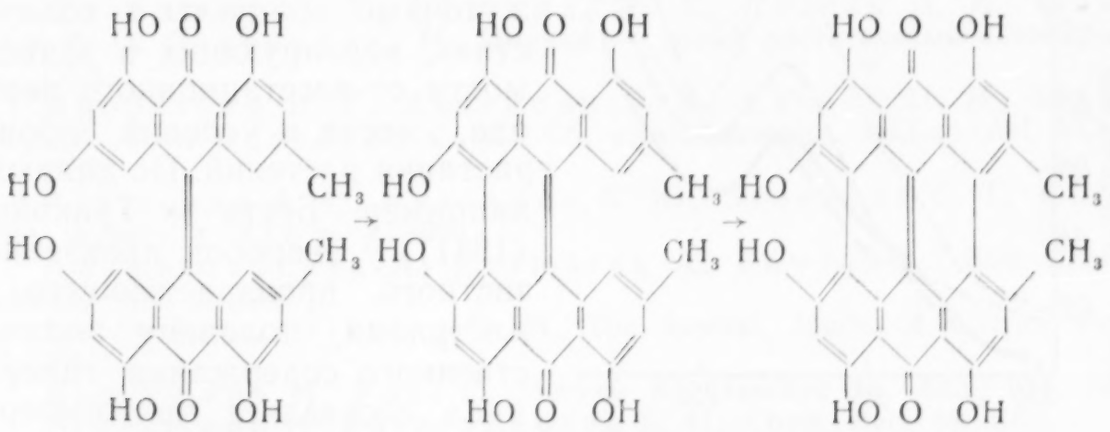
По данным Брокмана и др. исследователей, многие виды семейства зверобойных обладают способностью к синтезу франгула-эмодина (I) и продукта его энольной перегруппировки — франгула-эмодин-антронола (II); последний в процессе биосинтеза переходит в производное диантрона (III). Вещество, аналогичное этому соединению, было в свое время выделено Оксфордом и Райстриком (1946) из мицелия грибка *Penicilliopsis clavareoformis*, развивающегося на плодах японской хурмы (*Diospоros macrophylla*), и названо пенициллиопсином. Пенициллиопсин в процессе биосинтеза дает ряд промежуточных продуктов, в том числе оксипенициллопсин (IV) и гиперикодегидродиантрон (V), названный Брокманом протогиперицином. Протогиперицин очень неустойчив и при действии световых лучей или окисления переходит в гиперицин (VI); с другой стороны, он может быть восстановлен до франгула-эмодина (I).



(I) франгула-эмодин

(II) франгула-эмодин антранол

(III) пенициллиопсин



(IV) оксипенициллиопсии

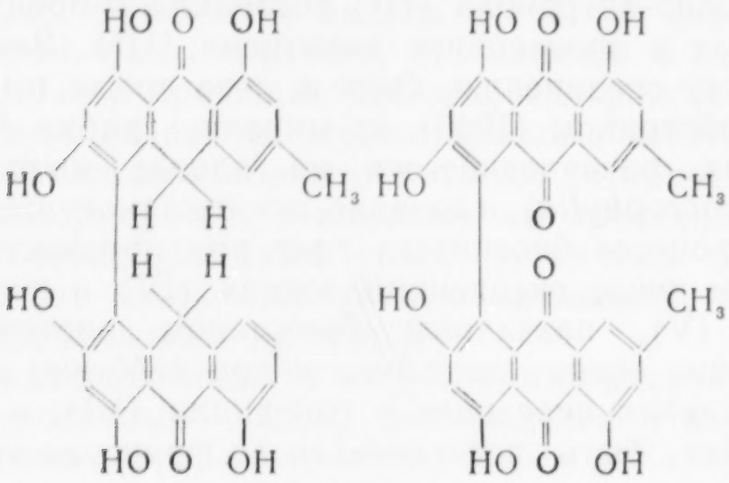
(V) протогиперицин

(VI) гиперицин

Методом хроматографической адсорбции все промежуточные продукты биосинтеза гиперицина были выделены Брокманом и др. и идентифицированы по их физико-химическим константам. Почти все они очень неустойчивы и при действии света окисляются до гиперицина.

Брокманом в числе промежуточных продуктов биосинтеза гиперицина был выделен диэмодинил - *8 8'*, образующийся при

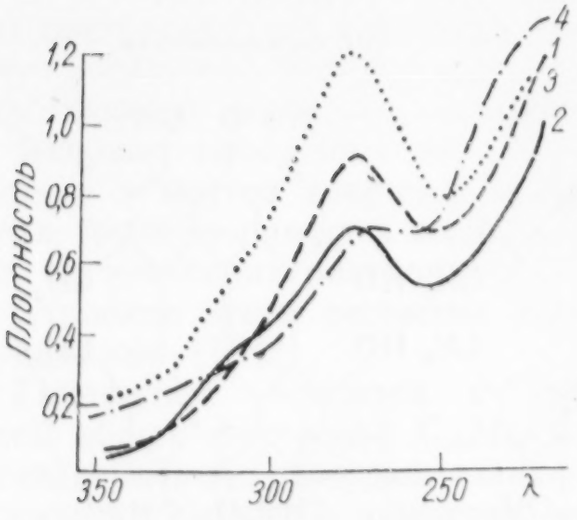
окислении пенициллиопсина. Установлено, что он идентичен скирину—веществу, выделенному Оксфордом и Райстриком (1954) из мицелия грибка *Penicillium islandicum*.



пенициллиопсин скирин

Таким образом, была установлена связь между промежуточными продуктами биосинтеза гиперицина и продуктами жизнедеятельности пенициллиовых грибков. В 1954 г. Брокманом с сотрудниками был осуществлен полный синтез гиперицина, исходя из метилового эфира *3—5*-диоксибензойной кислоты.

На основании литературных данных по биосинтезу гиперицина и изучения промежуточных продуктов этого синтеза можно полагать, что в растениях семейства зверобойных, наряду с гиперицином, имеются промежуточные продукты в количествах, варьирующих в зависимости от вегетационного периода, места и условий произрастания растений. По данным, например, Бетти и Трикойца (1941), у зверобоя пронзенно-листного, произрастающего в Австралии, половину количественного содержания гиперицина составляет протогиперицин.



Для установления взаимосвязи между антибактериальной активностью и химическим составом исследуемых препаратов были сняты спектры поглощения в ультрафиолетовой области спиртовых растворов этих препаратов до и после облучения их солнечным светом.

Все полученные препараты с активностью 1 : 1 000 000 — 1 : 10 000 000 имеют одинаковый характер кривых поглощения с резко выраженным максимумом в области 275 *мμ* (рисунок,

1, *2*). Кривые поглощения веществ, потерявших активность в результате облучения, имеют другой характер, и в них отсутствует резко выраженный максимум (кривая *4*). У веществ, обработанных углем и не теряющих при облучении антибактериальную активность, характер кривых одинаков до и после облучения (кривые *2* и *3*).

Различие спектров поглощения препаратов до и после облучения указывает на происходящие при действии света химические изменения.

Сопоставляя данные о светочувствительности и нестойкости промежуточных продуктов биосинтеза гиперицина с данными о светочувствительности препаратов, не очищенных от красителей, можно сделать заключение о влиянии гиперицина и продуктов его биосинтеза на антибактериальную активность зверобоя.

Чрезвычайно высокая (для растительных антибиотиков) антибактериальная активность зверобоя пронзеннолистного, а также давно известные ценные фармакологические качества этого растения ставят перед нами задачу его дальнейшего изучения и расширения путей его практического применения.

ЛИТЕРАТУРА

Бобир А. Д., ДАН УРСР, № 12, 1959.

Дербенцева Н. А., Рабінович А. С., Айзенман Б. Ю., Зелепуха С. І., Мандрик Т. П. і Швайгер М. О., «Мікробіол. журн.», т. XXI, № 5 (1959).

Дербенцева Н. А., Рабінович А. С., Зелепуха С. І., «Фармацевт. журн.», № 1, 1960 а.

Дербенцева Н. А., Рабінович А. С., Зелепуха С. І., ДАН УРСР, № 6, 1960 б.

Дроботько В. Г., Айзенман Б. Е., Киссль П. И., Швайгер М. О., Зелепуха С. И., Иманин — новый растительный антибиотик, К., 1954.

Дроботько В. Г., Айзенман Б. Е., Киссль П. И., Швайгер М. О. и Зелепуха С. И., Сб. «Антибиотики», Изд-во АН УССР, К., 1958.

Рабінович А. С., Айзенман Б. Ю., Зелепуха С. І., «Мікробіол. журн.», т. XXI, в. 2, 1959.

Awgustowskaya A., Kazmarek A., Pawlak L., Bull. Instroseleczn., **4**, f. 2, 1958.

Betty R. C., Trikojus V. M., The Austral, Journ. of Science, Febr. 21, 1941.

Brockmann H., Pohl F., Meier K., Haschad N., Ann., 553, 1942.

Brockmann H., Falnenhausen E. H., Chem. Ber., **84**, 1951.

Brockmann H., Eggers H., Chem. Berichte, **91**, No 1, 1958.

Felkowa, Stranski, Farinacia (českosl), № 8, 1957.

Howard B H., Raistrick H., Bioch. Journ., **56**, No 1, 1954.

Neuwald F. u. Hagenstrom V., Arch. Pharmazie, 287/59, Nr 8, 1953.

Osborn E., Brit. J. Exper. Pathol., **24**, No 6, 1943.

Oxford E., Raistrick H., Bioch. Journ., **34**, No 6, 1946.

Pace N., Mackinney, J. Am. Soc., 60 (1941).

НЕКОТОРЫЕ ДАННЫЕ ОБ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ ИМАНИНА А И НОВОИМАНИНА — НОВЫХ ПРЕПАРАТОВ ИЗ ЗВЕРОБОЯ ПРОНЗЕННОЛИСТНОГО

С. И. ЗЕЛЕПУХА и П. Я. ПОЧИНОК

Институт микробиологии АН УССР

При дальнейшем изучении зверобоя пронзеннолистного — растения, из которого получен иманин (В. Г. Дроботько и др., 1954, 1958), в Институте микробиологии АН УССР были получены новые антимикробные препараты — иманин А и новоиманин, антибактериальная активность которых во много раз превышала активность иманина (см. статью Н. А. Дербенцевой в настоящем сборнике и Н. А. Дербенцева и др., 1960).

В настоящем сообщении приводятся некоторые данные об испытании in vitro и in vivo антимикробных свойств этих препаратов.

Иманин А и новоиманин были получены нами от авторов (Н. А. Дербенцевой и А. С. Рабинович) в виде 1%-ного и 5%-ного спиртовых растворов.

В опытах in vitro изучалась антимикробная активность препаратов в отношении ряда микроорганизмов; выяснялись их бактерицидные свойства (на культуре золотистого стафилококка), а также влияние на их активность нормальной кровяной сыворотки.

Испытания проводились на жидких питательных средах, соответствующих каждому виду микроорганизмов, методом серийных разведений. Из основных спиртовых растворов препаратов готовили рабочие десятикратные разведения в дистиллированной воде, которые и вносились в различных количествах в питательные среды. (Методика более подробно изложена в статье А. С. Рабинович и др., 1959.)

Ниже приводим данные об антимикробной активности препаратов в отношении испытанных микроорганизмов (табл. 1).

Таблица 1

Антимикробная активность иманина А и новоиманина*

Виды бактерий	Иманин А	Новоиманин
Staphylococcus aureus № 209 . . .	1:1 000 000—1:10 000 000	1:1 000 000—1:10 000 000
Streptococcus pyogenes № 284 . . .	1:250 000	1:1 000 000
Enterococcus	1:2 500	1:25 000
B. diphtheriae gravis № 141	1:2 500 000	1:1 000 000
B. diphtheriae mitis № 138	1:10 000 000	1:2 500 000
B. diphtheriae intermedius № 3988 .	1:5 000 000	1:2 500 000
Mycobacterium B_5	1:50 000	1:250 000
Bac. histolyticus	1:10 000 000	1:250 000
„ *sporogenes*	1:5 000 000	1:500 000
„ *perfingens*	1:5 000 000	1:2 500 000
„ *mesentericus*	1:500 000	1:500 000
„ *megatherium*	1:250 000	1:1 000 000
„ *subtilis*	1:500 000	1:500 000
Actinomyces griseus	1:5 000	1:10 000
Epidermophyton rubrum 70/997 . . .	1:2 500	1:5 000

Отрицательные результаты были получены при испытании действия препаратов на следующие бактерии и грибы: *B. coli, B. typhi abdominalis,* три вида *B. dysenteriae, B. proteus vulgaris, B. Friedländeri, B. rhinoscleromatis, B. prodigiosus, B. pyocyaneus, B. fluorescens, Mucor plumbeum, Aspergillus niger, Penicillium chisogenum, Fusarium avenaceum, Candida albicans, Geotrichum amycelicum, Trichophyton crateriformi* и *Epidermophyton Kaufmann-Wolf.*

Препараты были также испытаны в отношении их действия на свободный бактериофаг кишечной палочки штамм 163 (методика испытания изложена в статье С. И. Зелепухи, 1960). В разведении 1 : 400 ни один препарат на бактериофаг не действовал.

Иманин А и новоиманин в разведении 1 : 2000, смешанные с каплей воды, содержавшей различные инфузории, не останавливали их движения при наблюдении под микроскопом в течение 30 мин.

Таким образом, иманин А и новоиманин в больших разведениях задерживают размножение грамположительных бактерий и не действуют или почти не действуют на другие испытанные нами микроорганизмы.

Иманин А и новоиманин, кроме бактериостатического действия, обладали и бактерицидным, причем их бактерицидный титр был во много раз ниже бактериостатического **.

---

* Цифры показывают бактериостатическое (или фунгистатическое) действие препаратов.

** Бактерицидный титр определяли путем высева из опытных пробирок на МПА.

Количество засеянных микробных тел сказывалось на бактериостатическом и особенно на бактерицидном действии препаратов. Для иллюстрации приводим данные одного из опытов (см. табл. 2).

Таблица 2

Бактериостатическое и бактерицидное действие иманина А при засеве различных количеств культуры

(*Staphylococcus aureus* № 209)

Количество микробов, засеянных в 1 *мл* среды	Бактериостатический титр	Бактерицидный титр
200 000	1:10 000 000	1:250 000
20 000 000	1:5 000 000	1:25 000

При изучении в динамике показано, что отмирание бактерий идет сравнительно медленно. Даже при больших концентрациях препаратов (1 : 2500—1 : 5000) гибель культуры наступала не ранее, чем через 3—5 часов (в зависимости от количества микробов). Бактерицидный титр, постепенно нарастая, достигал максимума к 18—24 часам и, как указывалось выше, во всех случаях был на много ниже бактериостатического.

Активность обоих препаратов сильно снижалась в присутствии кровяной сыворотки. Для примера приведем данные, полученные нами при испытании одной из серий новоиманина (см. табл. 3).

Таблица 3

Бактериостатический и бактерицидный титры новоиманина в присутствии различных количеств нормальной лошадиной сыворотки

(культура *Staphylococcus aureus* № 209, по 200 000 микробных тел в 1 *мл* среды)

Среда	Бактериостатический титр	Бактерицидный титр
МПБ	1:1 000 000	1:50 000
То же + 4% сыворотки	1:50 000	1:10 000
„ 10% „	1:25 000	1:10 000
„ 20% „	1:10 000	1: 5 000

Прежде чем приступить к опытам in vivo, мы ориентировочно испытали токсичность препаратов. Препараты вводились подкожно белым мышам весом 18—20 *г* одноразово и повторно (на протяжении 6 дней). Регистрировалась смертность живот-

ных и наличие или отсутствие реакции в месте введения препаратов.

Выживаемость белых мышей при введении различных доз иманина А и новоиманина характеризовалась такими показателями:

При одноразовом введении:	Иманин А	Новоиманин
10 *мг*	Все мыши пали	Все мыши пали
5 „	Пала часть мышей	Пала часть мышей
2,5 „	Живы	Живы
1,25 „	Живы	Живы
0,6 „	Живы	Живы
При ежедневном введении на протяжении 6 дней:		
10 *мг*	Все мыши пали	Все мыши пали
5 „	Все мыши пали	Все мыши пали
2,5 „	Пала часть мышей	Пала часть мышей
1,25 „	Пала часть мышей	Живы
0,6 „	Живы	Живы

У животных, которые остались живы, на месте введения препаратов явлений воспаления не отмечено.

Получив ориентировочные данные о токсичности испытуемых препаратов, мы приступили к опытам.

В качестве инфекционной модели нам служили белые мыши, которым внутрикожно вводилась культура золотистого стафилококка, выделенная из карбункула человека.

При введении 2,5 млрд. микробных тел в объеме 0,1 *мл* на месте введения культуры образовывался гнойно-некротический очаг и животные погибали от сепсиса в разные сроки после заражения.

Лечение подопытных животных начинали не позже чем через один час после заражения. Препараты инъецировались под кожу в месте введения культуры в виде 0,1%-ных растворов в 2%-ном спирте в количестве 1,0 *мл* и 0,5 *мл* (1,0 и 0,5 *мг* в перерасчете на сухой вес). Препараты вводились один раз в сутки три дня подряд. Контрольным животным вводили по 1,0 и 0,5 *мл* 2%-ного спирта; вторая группа контрольных животных не получала ничего.

О результатах лечения судили по выживаемости леченных животных в сравнении с контрольными.

Испытания были произведены в двукратной повторности, но на небольшом количестве животных, недостаточном для окончательных выводов. Приводим полученные результаты, так как

они довольно показательны, хотя и должны рассматриваться как сугубо предварительные (табл. 4).

Таблица 4

Выживаемость мышей, инфицированных смертельной дозой золотистого стафилококка при введении иманина А и новоиманина одновременно с заражением

Варианты опыта	Количество мышей в опыте	Из них пало	Выжили	Гармоническая средняя продолжительности жизни*
Иманин А по 0,5 *мг* . .	8	6	2	3,0
Новоиманин по 1,0 *мг* .	8	2	6	7,0
Контроль (спирт 2 %) по 1,0 *мг*	8	8	0	1,9
Контроль (не леченные)	8	8	0	1,7

Таким образом, новоиманин явно уменьшал смертность леченных им животных.

По литературным данным, иманин весьма эффективен при лечении ожогов; мы применяли и новоиманин в виде 5%-ной мази для лечения экспериментальных ожогов кроликов.

Получены предварительные данные, которые говорят о том, что новоиманин не менее, а может быть и более эффективен, чем иманин, опыты с которым были поставлены параллельно. Мы не приводим этих опытов подробно, так как результаты их будут изложены в другом сообщении.

Таким образом, резюмируя наши исследования и сопоставив полученные данные с литературными, можно сказать следующее: иманин А и новоиманин превосходят иманин по степени антибактериальной активности (в 10—20 раз); токсичность этих препаратов выше токсичности иманина. По ряду других биологических свойств препараты мало различаются между собой: все они действуют только на грамположительные бактерии; их антибактериальная активность в присутствии кровяной сыворотки резко снижается; их бактерицидное действие во много раз ниже бактериостатического; отмирание бактерий наступает через 3—4 часа.

Не исключена возможность, что во всех препаратах содержится одно и то же антибактериальное начало.

ЛИТЕРАТУРА

Дербенцева Н. А., В сб.: «Иманин — антибиотик из зверобоя», Изд-во АН УССР, 1961.

Дербенцева Н. А., Рабінович А. С., Айзенман Б. Ю., Зелепуха С. І., Мандрик Т. П., Швайгер М. О., «Мікробіол. журн. АН УРСР», т. XXI, в. 6, 1959.

* Вычислено по Пригге (см. книгу «Методы экспериментальной химиотерапии» под редакцией Г. Н. Першина, М., 1959).

Дербенцева Н. А., Рабінович А. С., Зелепуха С. І., «Фармацевт. журн.», № 1, 1960.

Дроботько В. Г., Айзенман Б. Е., Киссель П. И., Швайгер М. О., Зелепуха С. И., Иманин — новый растительный антибиотик, К., 1954.

Дроботько В. Г., Айзенман Б. Е., Киссель П. И., Швайгер М. О., Зелепуха С. И., сб. «Антибиотики», К., 1958.

Зелепуха С. І., «Мікробіол. журн. АН УРСР», т. XXII, в. 5, 1960.

«Методы экспериментальной химотерапии» под редакцией проф. Г. Н. Першина, М., 1959.

Рабінович А. С., Айзенман Б. Ю., Зелепуха С. І., «Мікробіол. журн. АН УРСР», т. XXI, в. 2, 1959.

ВЛИЯНИЕ АЭРОЗОЛЕЙ ИМАНИНА НА КРОВЯНОЕ ДАВЛЕНИЕ

М. Я. ПОЛУНОВ

Клиника болезней уха, горла и носа
Одесского медицинского института им. Н. И. Пирогова

В последние годы в нашей стране предложено лечение гипертонической болезни ингаляциями сальсолина и сероводородной водой.

Н. Д. Абрамова и С. С. Гальперин (1947) наблюдали хороший терапевтический эффект при гипертонической болезни от приема сальсолиновых ингаляций. На одну ингаляцию требовалось 0,03 сальсолина. Курс лечения — 15—20 сеансов. Кровяное давление максимальное снижалось на 40—75 *мм*, минимальное — на 20—30 *мм*. При этом кровяное давление снижалось больше, чем при введении сальсолина внутрь или подкожно.

Таблица 1

Кровяное давление у больных после ингаляции растворами пенициллина

Фамилия	До ингаляции	После ингаляции
Д-р-зо	110/60	110/65
Б-рук	110/60	100/60
А-ия	120/70	125/65
К-ая	115/70	115/65
С-ва	135/70	135/70
М-кий	130/70	125/75
Т-ва	100/65	100/60
П-чук	100/65	105/65
М-ва	110/60	105/60
Т-на	110/70	105/70

Таблица 2

Изменения артериального давления под влиянием ингаляций 1%-ным раствором иманина

Фамилия	До ингаляции	После ингаляции
Ор-я	215/90	150/70
Ис-ов	210/80	170/90
Г-ман	140/95	120/70
Ч-к	150/80	140/85
З-ня	160/85	145/60
Х-н	200/100	180/95
П-и	150/80	135/70
П-ки	185/100	160/90
Б-р	130/80	110/70
Х-мых	130/70	110/65

А. А. Кравченко (1950) провела ингаляции сероводородной воды 107 больным. Количество ингаляций — от 3 до 25. У 49 человек кровяное давление снизилось после 10 ингаляций, у 16 человек — после 11—20 и у 13 человек — после большего числа ингаляций.

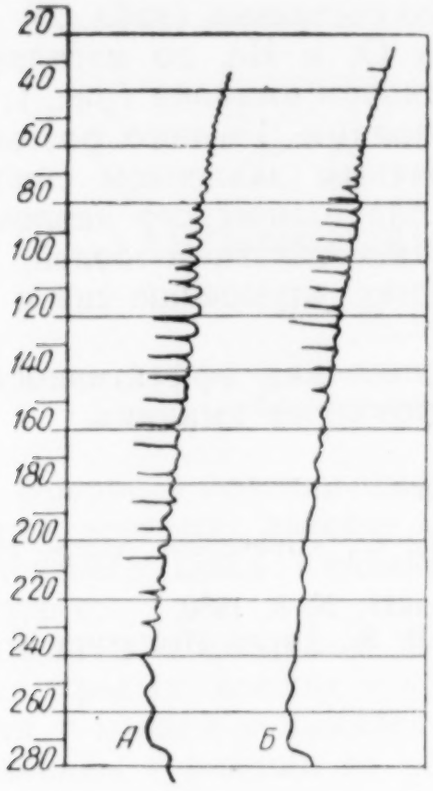


Рис. 1. Осцилограмма больной О., 70 лет; *А* — до ингаляции, *Б* — после курса ингаляции 1%-ным раствором иманина.

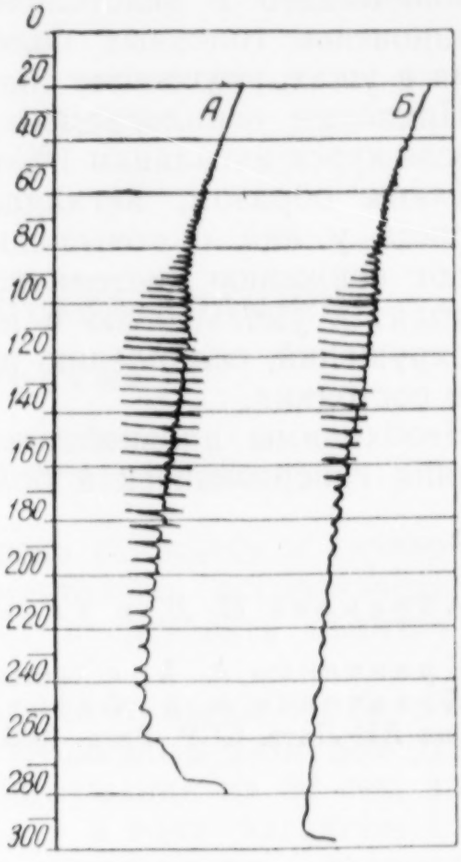


Рис. 2. Осцилограмма больного Ис., 62 г.; *А* — до лечения, *Б* — после курса ингаляций иманина.

А. А. Кравченко и В. В. Феоктистова (1955) наблюдали снижение систолического и диастолического давления у гипертоников под влиянием сероводородных ингаляций. Снижение артериального давления происходило в первые 4—5 дней и сопровождалось уменьшением или исчезновением головных болей и головокружений, улучшением сна и общего состояния.

А. С. Невраева (1956) для лечения гипертонической болезни также с успехом применяла ингаляции искусственной сероводородной воды.

Учитывая важность изыскания новых лекарственных веществ, которые можно применить для аэрозольного лечения гипертонии, мы испытали растворы пенициллина и иманина. Измерение кровяного давления производилось аппаратом Рива-Роччи и осциллографом до ингаляции, сразу же после нее, а затем через 10, 20 и 30 мин.

Ингаляции аэрозолями пенициллина в количестве 50 000 ед. в течение 5 минут не влияли на кровяное давление (см. табл. 1).

При ингаляции 1%-ным раствором иманина у лиц с повышенным кровяным давлением отмечалось отчетливое снижение систолического и диастолического давления, уменьшение или исчезновение головных болей и головокружений, ослабление шума в ушах, улучшение сна и общего состояния (табл. 2).

Приводим осцилограммы больных О. и Ис. до ингаляции и после курса ингаляции 1%-ным раствором иманина (рис. 1, 2).

Таким образом, ингаляции аэрозолями 1%-ного раствора иманина у лиц с повышенным кровяным давлением способствуют снижению систолического и диастолического давления, приводят к уменьшению и исчезновению головных болей, головокружений, ослаблению шума в ушах, улучшению сна и общего состояния.

Необходимы дальнейшие наблюдения над эффективностью лечения гипертонической болезни аэрозолями иманина.

ЛИТЕРАТУРА

Абрамова Н. Д. и Гальперин С. С., «Врачебное дело», № 1, 1947.

Кравченко А. А., «Советская медицина», № 8, 1950.

Кравченко А. А., Феоктистова В. В., Труды Института курортологии АН Латв. ССР, Рига, 1955.

АНТИШОКОВЫЕ СВОЙСТВА ИМАНИНА

Ш. И. ПАВОЛОЦКИЙ

Кафедра патологической физиологии
Владивостокского медицинского института

Вопрос о лечении ожогового шока относится к неразрешенным, поэтому лечение экспериментально воспроизведенного ожогового шока иманином может представить практический интерес.

Опыты с ожоговым шоком были поставлены на белых мышах, крысах, кошках и кроликах. Обширный ожог поверхности тела у мышей вызывался путем погружения на 30 сек. задней половины туловища до реберных дуг в воду, нагретую до 54°. Спустя 1—2 мин. обожженная поверхность смазывалась 1%-ным слабощелочным раствором иманина. Контролем служили обожженные животные, которых не лечили иманином. В результате проведенной серии опытов было установлено, что через 12 часов после ожога 25% животных, не леченных иманином, погибают, в то время как леченные иманином погибают

Динамика температуры тела при ожоговом шоке у мышей, леченных иманином

Часы	Ректальная температура (средние данные) в °С	
	Контроль	Опыт
До ожога	37,7	37,7
Спустя 3 часа после ожога	29,4	36,2
„ 6 час. „ „	29,1	36,0
„ 12 „ „ „	26,2	36,1
„ 24 „ „ „	—	35,4
„ 48 „ „ „	—	35,0
„ 96 „ „ „	—	36,1

в 11% случаев, причем смерть наступает через 24—30—48 и более часов. Важным критерием, кроме выживаемости животных, является также динамика температуры тела.

В другой серии опытов на кошках и кроликах ожог вызывался воспламененной ватой, смоченной спиртом и уложенной на поверхность грудной клетки, живота, внутренней поверхности бедер, или же на протяжении минуты выливалась кипящая вода из чайника на задние конечности.

Способность иманина изменять гидрофильность тканей на фоне антибактериального действия делает понятным лечебный эффект иманина при ожоговом шоке.

Из работ Ю. Ю. Джанелидзе (1941) известно, что потеря плазмы за сутки может достигать 3 500 *мл* при ожоге $^1/_6$ поверхности тела.

По данным И. Д. Житнюк и Н. М. Андрияшева (1949), плазмопотеря при тяжелых ожогах наступает рано.

Наши данные показывают, что в результате плазмопотери у животных, не леченных иманином, очень рано обнаруживается гипопротеинемия. Наш опыт показывает, что иманин целесообразно применять рано. Многие авторы отождествляют плазмопотерю с профузным кровотечением, но последнее можно остановить, а плазмопотерю остановить невозможно, поэтому особо ценно в этих условиях раннее применение иманина, предохраняющего организм от плазмопотери, а следовательно, и от возникновения шока.

ВЛИЯНИЕ АЭРОЗОЛЕЙ ИМАНИНА НА СОСУДИСТЫЙ ТОНУС И ДЫХАНИЕ

М. Я. ПОЛУНОВ

Клиника болезней уха, горла и носа
Одесского медицинского института им. Н. И. Пирогова

В связи с открытием все новых и новых лекарственных препаратов все более острым становится вопрос о щадящем пути их введения в организм. Одним из таких путей является ингаляция.

Лекарственные вещества, введенные в организм ингаляционным путем в виде аэрозолей, благодаря огромной всасывающей способности слизистой оболочки дыхательных путей, кроме местного, непосредственного, действия на болезненный участок, оказывают и общее благотворное влияние на весь организм. Этому способствует то обстоятельство, что лекарственное вещество, всасываясь через дыхательные пути, сразу попадает в лимфатическую систему легкого и кровь малого круга кровообращения, минуя печень и большой круг кровообращения; следовательно, лекарственное вещество проникает в кровь в неизменном виде и во много раз быстрее, чем введенное в желудок.

Лекарственные аэрозоли с лечебной и профилактической целью применяются при гриппе, острых катаррах дыхательных путей, бронхиальной астме, ангинах, хроническом тонзиллите, аденоидных разращениях у детей, при острых и хронических бронхо-легочных заболеваниях (бронхиты, пневмонии, абсцессы легкого, бронхоэктазии, актиномикоз легкого, различные формы туберкулеза верхних дыхательных путей и легкого), для лечения больных дифтерией, коклюшем, корью, скарлатиной, санации бациллоносителей, в анестезиологии, при гипертонической болезни и т. д.

Огромную роль играет вдыхание различных лекарственных веществ как при лечении различных профессиональных заболеваний, так и в профилактике различных профессиональных вредностей на производстве. Уже давно отмечено, что на тех

производствах, где применяются ингаляции, процент заболеваемости дыхательных путей среди рабочих резко снижен.

Наше внимание было обращено на наблюдения ряда авторов (А. И. Коломийченко, Е. А. Евдощенко, Л. А. Зарицкий, М. Ф. Королев, И. И. Сутин и др.), свидетельствовавшие о благоприятном действии иманина при ряде ото-рино-ларингологических заболеваний.

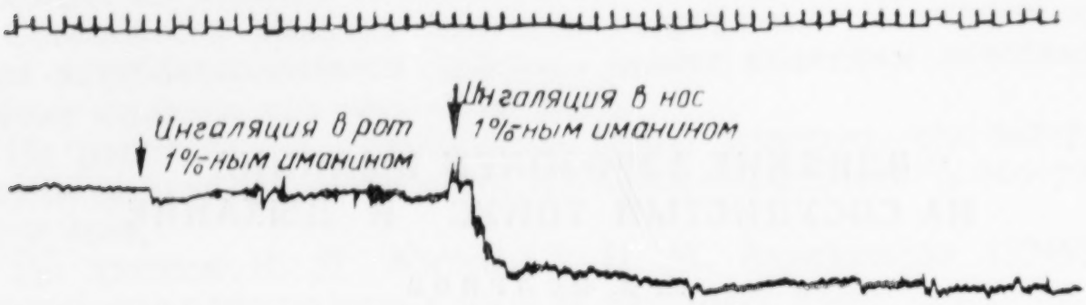


Рис. 1. Плетизмограмма больного Г., 11 лет (ингаляция 1%-ного иманина в рот вызывает незначительную сосудосуживающую реакцию; ингаляция в нос — выраженное снижение уровня плетизмограммы). Отметка времени — 2 сек.

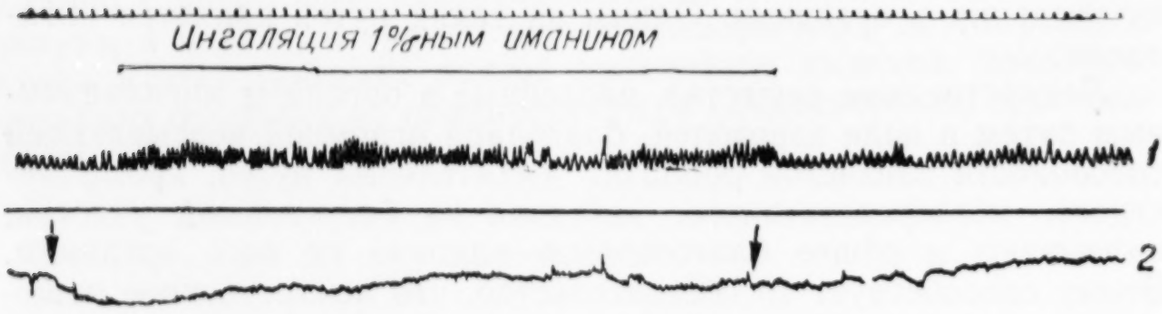


Рис. 2. Плетизмограмма больной П., 11 лет:

1 — умеренно выраженная сосудосуживающая реакция во время ингаляции; *2* — пнеймограмма (вдыхание аэрозолей вызывает увеличение амплитуды и частоты дыхательных движений, которое после ингаляции сменяется исходным уровнем). Отметка времени — 2 сек.

Как показали наши исследования (М. Е. Салант и М. Я. Полунов), иманин обладает сосудосуживающим свойством, чем отчасти объясняется противовоспалительное действие; одновременно он удлиняет время свертываемости крови. Учитывая, что ингаляции 1%-ного иманина значительно уменьшают острый воспалительный процесс в миндаликовых нишах и зеве после операции тонзиллэктомии, а также эффективны при острых катаррах верхних дыхательных путей у детей грудного возраста (В. И. Зузанова и М. Я. Полунов), мы провели ряд опытов по выяснению влияния ингаляции 1%-ного раствора иманина на сосудистый тонус и дыхание.

В наших исследованиях применялся плетизмограф системы Новицкого — для верхней конечности. Плетизмограмма записывалась при медленном вращении барабана кимографа. После

того, как испытуемый привыкал к условиям опыта, у него записывалась плетизмограмма до ингаляции (исходный фон), во время ингаляции и после ингаляционной процедуры.

Записано 118 плетизмограмм до и после приема ингаляции 1%-ного иманина у 52 человек, страдавших хроническим тонзиллитом или склеромой дыхательных путей.

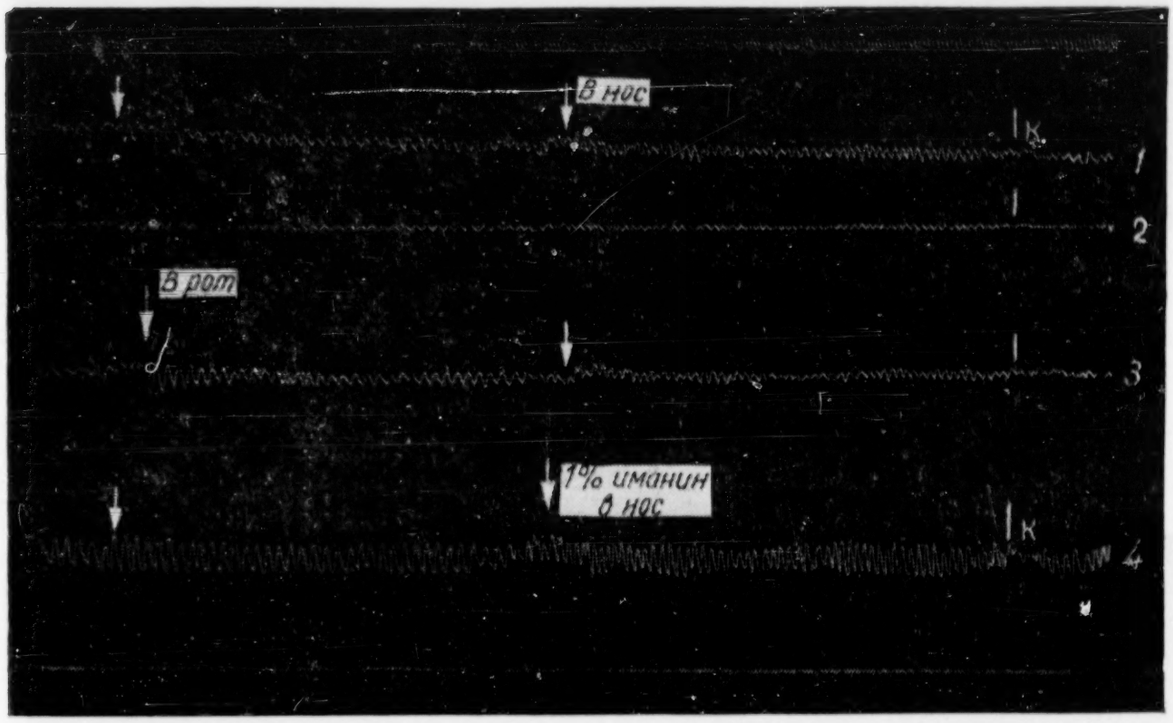


Рис. 3. Множественная пнеймограмма больной П., 44 года (диагноз — склерома верхних дыхательных путей). Увеличение амплитуды и частоты дыхательных движений под влиянием иманина:

1 — верхнеключичное дыхачие слева, *2* — верхнеключичное дыхание справа, *3* — грудное дыхание, *4* — брюшное дыхание. Отметка времени — 1 сек.

Применение ингаляции 1%-ного иманина вызывало более (рис. 1) или менее (рис. 2) выраженное снижение уровня плетизмограммы, причем вдыхание аэрозолей 1%-ного иманина в нос вызывало более выраженную сосудосуживающую реакцию, чем при ингаляции в рот.

Во время ингаляции у больных производились записи дыхания (пнеймография по методу проф. Сергиевского: грудного, верхне-ключичного справа и слева, брюшного).

В основном ингаляции 1%-ным иманином вызывали увеличение амплитуды и частоты дыхательных движений. После прекращения ингаляции наблюдается кратковременное уменьшение амплитуды и частоты дыхательных движений, которые через 20 секунд возвращаются к исходному уровню (рис. 3, 4).

В других случаях ингаляция 1%-ного иманина вызывала кратковременное торможение дыхательных движений и умень-

шение частоты и амплитуды дыхания. Через 20 сек., несмотря на продолжающуюся ингаляцию, дыхание возвращалось к норме (рис. 5).

Иногда ингаляция 1%-ного иманина способствует появлению неправильного дыхания, характеризующегося чередованием глубоких вдохов и выдохов, перемежающихся с дыхательными

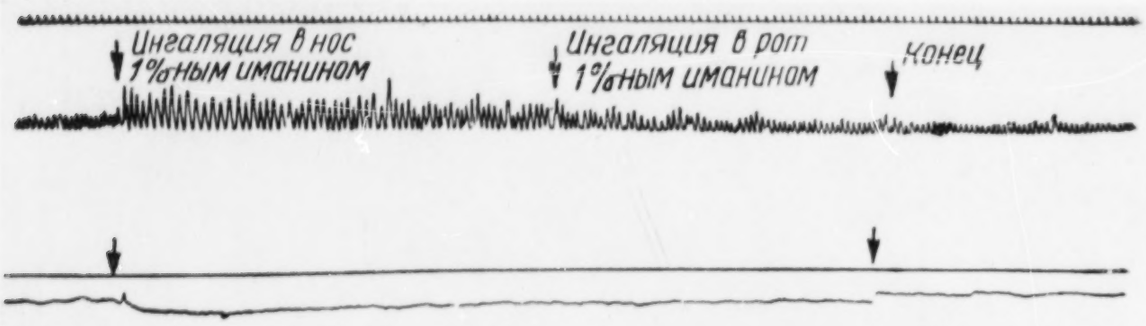


Рис. 4. Пнеймограмма больного Х., во время ингаляции 1%-ного иманина (ингаляция приводит к увеличению амплитуды дыхательных движений; через 20 сек. после прекращения ингаляции наблюдается исходный уровень дыхания).

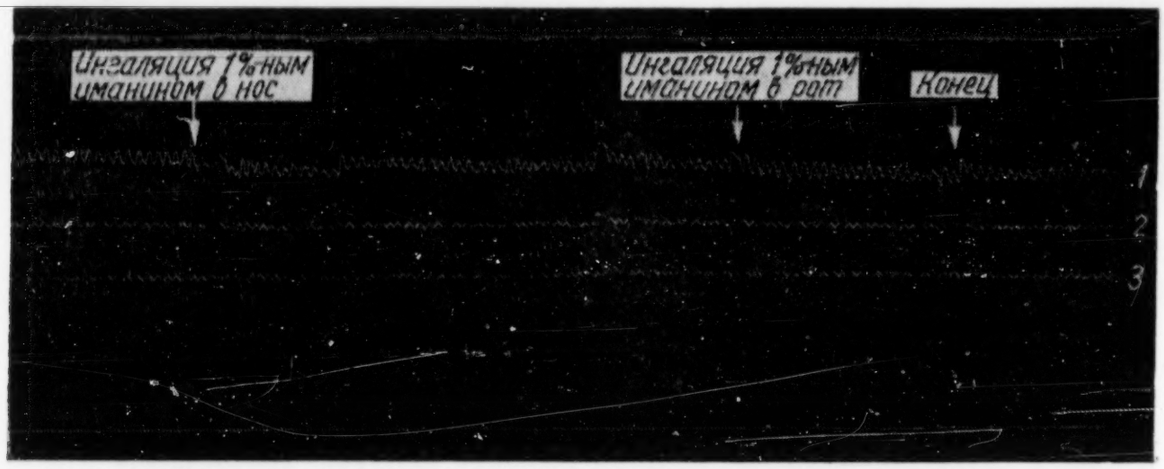


Рис. 5. Пнеймограмма больного Н. (во время ингаляции иманина наблюдается кратковременное торможение дыхательных движений):

1 — верхнеключичное дыхание, *2* — грудное дыхание, *3* — брюшное дыхание. Отметка времени — 1 сек.

движениями обычной амплитуды и частоты. Прекращение ингаляции сопровождается восстановлением исходного уровня дыхания через 30 сек. (рис. 6).

Аэрозоли 1%-ного иманина оказывали сосудосуживающее действие и на слизистую оболочку носа. Обычно после ингаляции больные отмечали улучшение носового дыхания. Нами производилась запись носового дыхания до и после ингаляции 1%-ного иманина, которая подтвердила клинические данные — после ингаляции носовое дыхание становилось свободнее (рис. 7—8).

827

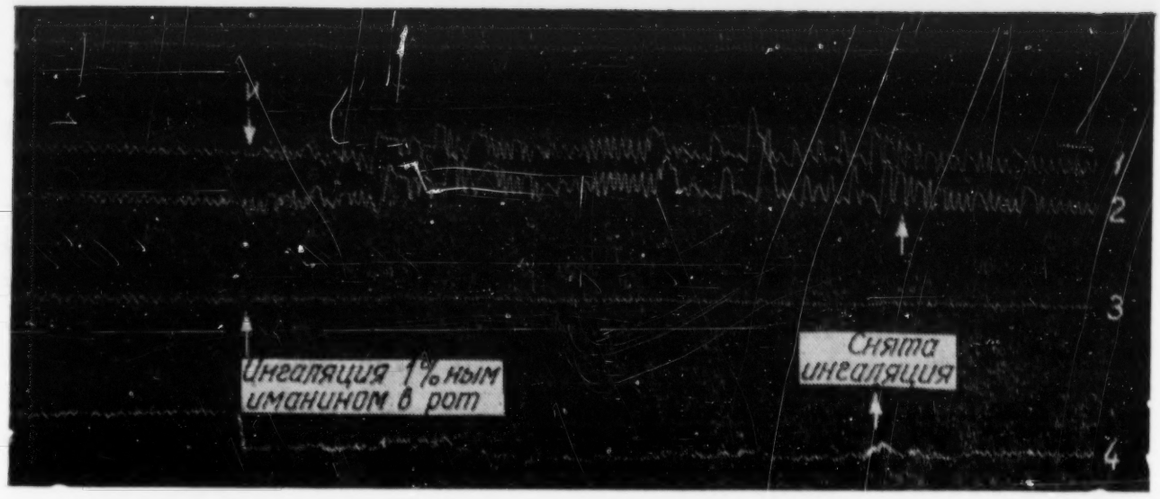


Рис. 6. Больная Н., 34 года:

1, 2, 3 — запись дыхательных движений, *4* — плетизмограмма (ингаляция иманина способствует появлению неправильного дыхания, характеризующегося появлением глубоких вдохов и выдохов; прекращение ингаляции приводит к восстановлению исходного уровня дыхания).

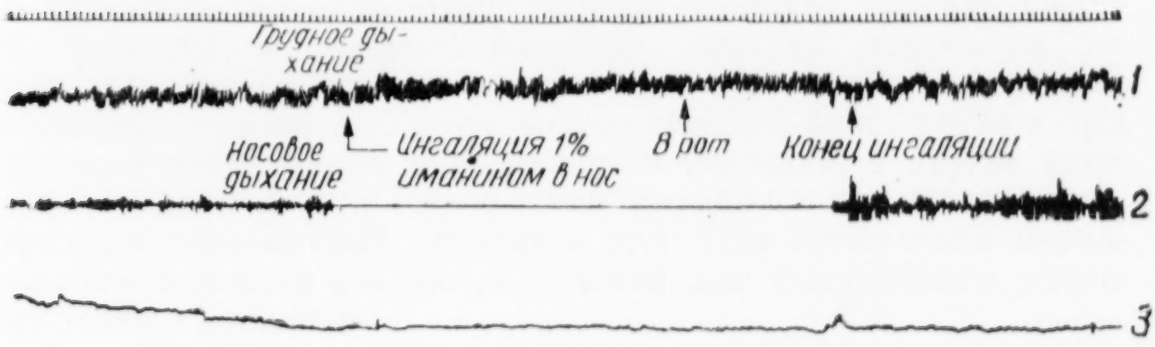


Рис. 7. Больной П., 90 лет:

1 — запись грудного дыхания; *2* — запись носового дыхания; *3* — плегизмограмма (ингаляция 1%-ным иманином приводит к улучшению носового дыхания). Отметка времени — 2 сек.

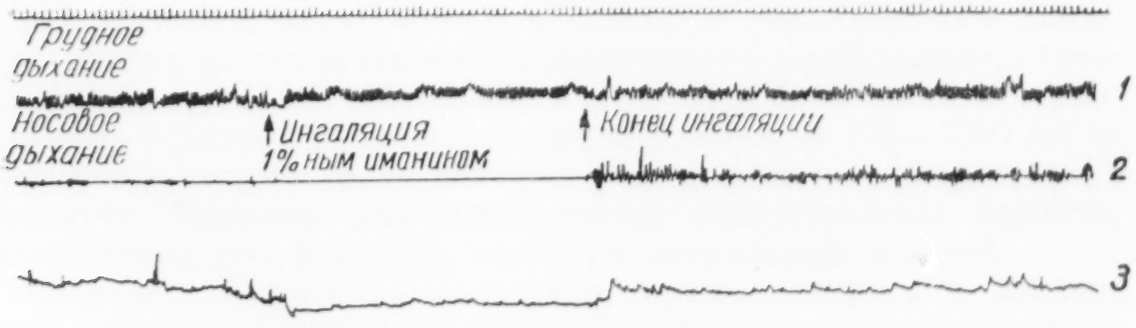


Рис. 8. Больной П., 12 лет:

1 — запись грудного дыхания; *2* — запись носового дыхания; *3* — плегизмограмма (ингаляция 1%-ным иманином приводит к восстановлению носового дыхания) Отметка времени — 2 сек.

Выводы

1. Вдыхание аэрозолей 1%-ного раствора иманина вызывает более или менее выраженную сосудосуживающую реакцию; эта реакция особенно выражена при ингаляции в нос.

2. Ингаляции 1%-ным раствором иманина вызывают увеличение амплитуды и частоты дыхательных движений, которые через 15—20 сек. после ингаляции возвращаются к исходному уровню. Иногда ингаляции приводят к появлению неправильного дыхания, характеризующегося чередованием глубоких вдохов и выдохов, прекращающихся после ингаляции.

3. Ингаляция 1%-ным раствором иманина способствует улучшению носового дыхания.

ДЕЙСТВИЕ ИМАНИНА НА ФУНКЦИЮ МЕРЦАТЕЛЬНОГО ЭПИТЕЛИЯ

М. Я. ПОЛУНОВ

Клиника болезней уха, горла и носа
Одесского медицинского института им. Н. И. Пирогова

Известно, что одни лекарственные вещества (борная кислота, бура, танин, перекись водорода, эфедрин, адреналин, кокаин, ментоловое масло, марганцевокислый калий, салицилаты, хлорамин, сернокислый цинк, нитрат серебра, окись ртути и др.) угнетают деятельность мерцательного эпителия, а другие ускоряют, активируют его (строфантин, пиридин и его производные, стрихнин, сернокислый атропин и др.). При стимуляции мерцательного эпителия создаются условия для быстрейшего удаления пыли и микробов.

За границей с целью стимуляции движения ресничек мерцательного эпителия рекомендуется во все носовые капли добавлять растворы стрихнина (0,05%) и атропина (0,025%), однако эти вещества небезопасны, особенно при гипертонии.

Как показали исследования С. И. Эйдельштейна (1956) и наши собственные, антибиотики, в зависимости от концентрации и pH раствора, могут изменять функцию мерцательного эпителия, вплоть до его остановки: концентрации пенициллина, стрептомицина — по 100 000 *ед/мл*, а растворы биомицина и террамицина — даже в небольших концентрациях по 100—1000 *ед/мл* оказывают тормозящее действие на функцию мерцательного эпителия. Поэтому изыскание новых лекарственных веществ, ускоряющих его функцию, является актуальной задачей.

Одним из новых антибиотиков, применяющихся в последние годы в клинике с лечебной целью, является иманин (А. И. Коломийченко и Е. А. Евдоденко, М. Ф. Королев и др.). Влияние этого антибиотика на функцию мерцательного эпителия еще не установлено.

Мы поставили задачу — выяснить действие иманина на мерцательный эпителий. С этой целью был испытан как по-

рошкообразный иманин per se или в смеси со стрептоцидом, так и иманин в растворах.

В нашей работе определение функции мерцательного эпителия слизистой оболочки пищевода лягушки производилось по схеме А. А. Рожанского с некоторыми нашими добавлениями.

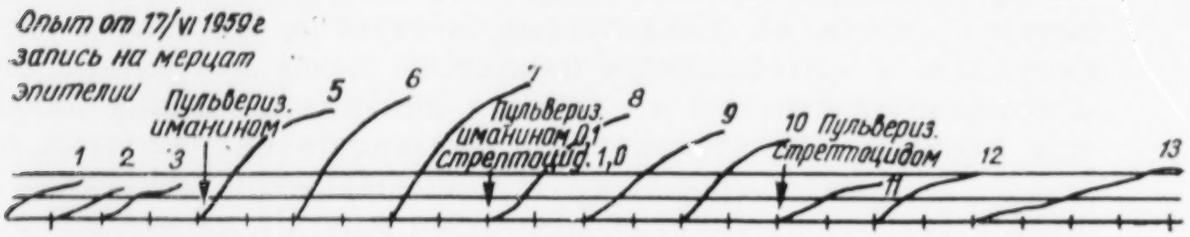


Рис. 1. Запись движения на мерцательном поле после нанесения порошка иманина и его смеси:

1, 2, 3 — исходные кривые высотой 15, 12, 14 *мм*; *4, 5, 6, 7* — нанесение порошка иманина — кривые высотой 40, 45, 47 *мм*; *8, 9, 10* — пульверизация смесью порошков иманина (0,1) и стрептоцида (1,0), кривые высотой 34, 28, 30 *мм*; *11, 12, 13* — нанесение порошка стрептоцида, кривые высотой 12, 14, 20 *мм*. Отметка времени 1 мин. Параллельные линии через 10 *мм*.

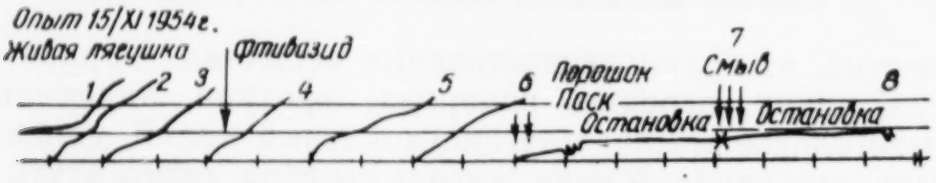


Рис. 2. Запись мерцательного движения после нанесения порошков фтивазида и ПАСК:

1, 2, 3 — контрольные кривые высотой 27, 31, 25 *мм*; *4, 5, 6* — кривые после нанесения порошка фтивазида, высотой 24, 19, 22 *мм*; *7* — остановка двигательной функции мерцательного эпителия под влиянием порошка ПАСК (смыв водой не восстанавливает мерцания). Отметки времени — 1 мин.

Регистрирующий прибор состоял из стеклянной дугообразной вилки с металлической осью (заточенная с обеих концов металлическая иголка). На последней укреплена согнутая под углом 120° длинная тонкая соломинка. К одному концу соломинки прикреплялся волосок для записей на ленте кимографа, к другому — коконная нить с кусочком фотопленки. Кусочек фотопленки, передвигаясь по поверхности эпителия, благодаря мерцанию ресничек слизистой оболочки, увлекал нить и, опуская одно плечо рычажка, другое — с писчиком — поднимал и тем самым записывал кривую на закопченной ленте кимографа. Лягушку фиксировали на пробковой доске, нижнюю челюсть зажимом Кохера поднимали кверху, а затем в пищевод вставляли длинное носовое зеркало и расширяли его. Движение грузика при этом осуществлялось по поверхности слизистой оболочки пищевода между браншами носового зеркала. Таким образом, у подопытной лягушки не была повреждена ни одна часть тела.

В первой серии опытов испытывался порошок иманина в смеси со стрептоцидом и отдельно порошок стрептоцида. При нанесении на слизистую пищевода лягушки порошка иманина

наблюдалось ускорение двигательной функции мерцательного эпителия (рис. 1). Смесь порошков иманина (0,1) и стрептоцида (1,0) также вызывала ускорение двигательной функции мерцательного эпителия, но в меньшей мере, в то время как

Рис. 3. Запись мерцательного движения после нанесения порошка глюкозы и смеси порошков глюкозы, фтивазида и ПАСК:

1, 2, 3 — контрольные кривые высотой 19 *мм*, 15 *мм*, 22 *мм*.; *4* — кривая после нанесения порошка глюкозы (остановка движения); *5, 6* — кривые после смыва глюкозы высотой 22 и 30 *мм*; *7* — кривая после нанесения смеси порошков глюкозы, ПАСК и фтивазида (остановка движения); *8, 9* — кривые высотой 25 *мм*, 24 *мм*, после смыва; *10* — кривая после нанесения фтивазида; *11, 12* — кривые после смыва фтивазида, высотой 29 *мм* и 17 *мм*.

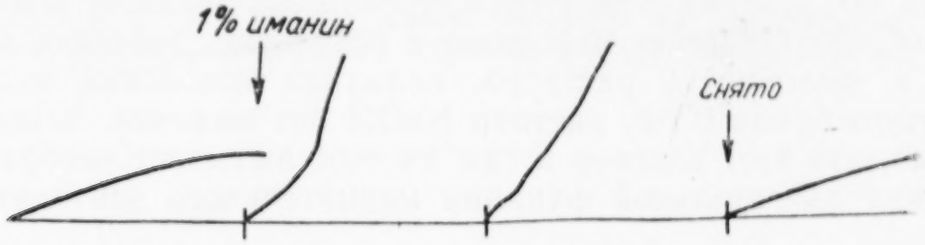


Рис. 4. Исходная кривая высотой в 11 *мм*, после орошения 1%-ным раствором иманина, растворенного в 0,1-н. NaOH, высота кривой — 30 *мм*.

Отметка времени — 2 мин.

при нанесении на поверхность слизистой оболочки только одного порошка стрептоцида наступало торможение двигательной функции мерцательного эпителия.

Для сравнения таким же путем испытывались фтивазид, ПАСК, глюкоза.

Установлено, что при нанесении на поверхность слизистой оболочки порошка фтивазида отмечается небольшое торможение функции мерцания; при распылении порошка ПАСК наступает необратимая остановка двигательной функции мерцательного эпителия (рис. 2).

Порошок глюкозы вызывает длительную, но обратимую задержку двигательной функции мерцательного эпителия: после промывания водой функция мерцания восстанавливается.

Опыление слизистой оболочки смесью порошков — ПАСК, фтивазида и глюкозы—вызывает длительную, но обратимую задержку двигательной функции мерцательного эпителия (рис. 3).

В другой серии опытов испытывалось действие растворов иманина. Все растворы готовились на 0,1-н. едком натре.

Опыты показали, что орошение слизистой пищевода лягушки 1%-ным раствором иманина в щелочи вызывает ускорение

функции мерцательного эпителия (рис. 4), тогда как растворы иманина 1 : 500 и 1 : 1000 вызывают замедление и остановку мерцательного движения (рис. 5). Таким образом, при большом разведении двигательная функция мерцательного эпителия угнетается.

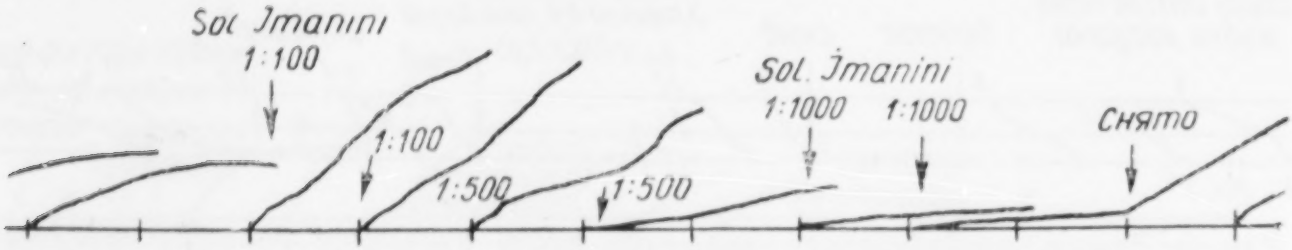


Рис. 5.

1 — исходная кривая высотой 15 *мм; 2* — кривая высотой 38 *мм* (после орошения раствором иманина 1 : 100); *2* — кривая высотой 26 (после орошения раствором 1 : 500); *3* — кривая высотой 8 *мм* (после орошения раствором 1 : 1000). Порошок иманина растворялся в 0,1-н. растворе NaOH. Отметка времени — 1 мин.

Для объяснения этого парадоксального явления мы, предполагая, что угнетение возникает в результате действия не иманина, а щелочности раствора, испытали последний отдельно. Для этого брали 0,1-н. раствор NaOH без иманина. Было установлено, что этот раствор и сам по себе вызывает необратимую задержку двигательной функции мерцательного эпителия.

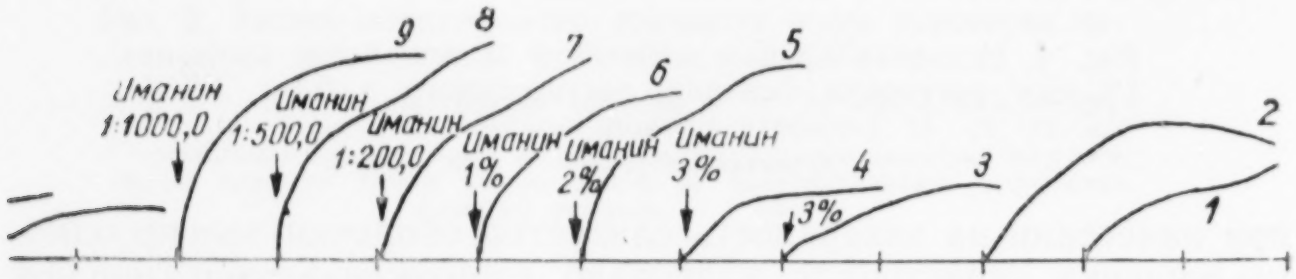


Рис. 6. Запись движения на мерцательном поле пищевода лягушки (высота кривых читается слева направо):

1 — исходная кривая высотой 15 *мм; 2* — кривая высотой 60 *мм* (после орошения раствором 1 : 1000); *3* — кривая высотой 60 *мм* (после орошения раствором 1 : 500); *4* — кривая высотой 55 *мм* (после орошения раствором 1 : 200); *5* — кривая высотой 60 *мм* (после орошения раствором 1 : 500); *6* — кривая высотой 55 *мм* (после орошения раствором 1 : 200); *7* — кривая высотой 55 *мм* (после орошения 1%-ным раствором); *8* — кривая высотой 54 *мм* (после орошения 2%-ным раствором); *9* — кривая высотой 20 *мм* (после орошения 3%-ным раствором). Отметка времени — 1 мин.

В следующих опытах брали раствор иманина, приготовленный согласно инструкции Института микробиологии АН УССР, 1,0 *г* порошка иманина растворяли в 20 *мл* 0,1-н. раствора NaOH, смесь кипятили на водяной бане 5—10 мин., после чего прибавляли 80 *мл* дистиллированной воды. Дальнейшее разведение иманина производили дистиллированной водой, исходя из 1%-ного раствора его.

В этой серии опытов установлено, что иманин в разведениях 1 : 1000, 1 : 500, 1 : 200, 1 : 100 и 1 : 50 вызывает ускорение двигательной функции мерцательного эпителия, тогда как 3%-ный раствор тормозит мерцание; однако это торможение кратковре-

менное — через 2 мин. функция мерцательного эпителия восстанавливается (рис. 6).

Таким образом, исследования показали, что иманин как в порошке, так и в растворах обладает свойством стимулировать работу мерцательного эпителия пищевода лягушки. Лишь более крепкие (3%-ные) растворы тормозили ее.

ЛИТЕРАТУРА

Дроботько В. Г., Айзенман Б. Е., Киселъ П. И., Швайгер М. О. и Зелепуха С. И., Иманин — новый растительный антибиотик, Изд-во АН УССР, 1954.

Коломийченко А. И. и Евдощенко Е. А., Там же.

Королев М. Ф., «Вестн. ото-рино-ларингологии», № 1, 1958.

Полунов М. Я., Тезисы докладов на расширенном пленуме правления Всесоюзного Научного общества ото-рино-ларингологов, М., 1956.

Рожанский Н. А., Труды физиологической лаборатории Донского университета, в. 2, Госиздат, Ростов-на-Дону, 1920.

Эйдельштейн С. И., Тезисы докладов на расширенном пленуме правления Всесоюзного научного общества ото-рино-ларингологов, М., 1956.

О ВЛИЯНИИ ИМАНИНА НА РЕТИКУЛО-ЭНДОТЕЛИАЛЬНУЮ СИСТЕМУ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Т. И. ИВАНОВА и Г. А. МЫРСИКОВ

Станиславский медицинский институт

Отечественный растительный антибиотик иманин применяется в качестве наружного средства. Однако следует допустить при этом и возможность его общего влияния на организм, особенно при нанесении на обширные поверхности нарушенных (например, ожогами) покровов тела. Кроме того, лечебные свойства антибиотиков следует изучать со стороны их влияния не только на микроорганизмы, но и на макроорганизмы.

В настоящем сообщении мы приводим результаты изучения влияния иманина на состояние ретикуло-эндотелиальной системы (РЭС) у лабораторных животных. По данным Л. Н. Трошиной (1954), применявшей иманин для лечения инфицированных ран, под влиянием антибиотика в ране происходит увеличение количества полибластов и макрофагов, наблюдается быстрая эпителизация раневой поверхности.

Аналогичные результаты были получены Н. П. Морозовой (1954), лечившей иманином ожоги, и С. М. Китом (1956), применявшим иманин также при ожогах в эксперименте.

Наше исследование было проведено на белых мышах весом 20—22 *г*. Иманин вводили внутрибрюшинно в виде 0,5%-ного раствора в подщелоченной воде (pH 8,5), один раз в сутки, ежедневно в дозе 0,4 *мл* на протяжении 10 дней. Контрольным мышам точно также вводили внутрибрюшинно подщелоченную воду. Фагоцитарную реакцию у подопытных и контрольных животных изучали в брюшном эксудате. Для этого мышам в разные сроки опыта вводили в брюшную полость взвесь убитых стафилококков. Через различные промежутки времени из брюшной полости животных шприцем извлекали несколько капель эксудата. Мазки фиксировали в смеси Никифорова и окрашивали по Романовскому—Гимза. В мазках определяли фаго-

цитарное число и количество неактивных и фагоцитирующих клеток. Для изучения состояния РЭС часть подопытных и контрольных мышей убивали на пятые и десятые сутки. Состояние РЭС изучалось в срезах печени, почек, слезенки и брыжейки.

Исследование показало, что у подопытных мышей, получавших иманин на протяжении пяти суток (первая группа), наблюдалось активирование ретикуло-эндотелиальной системы. Так, в печени, преимущественно по ходу сосудов мелкого калибра, отмечалась умеренная пролиферация клеток типа эндотелия с распространением местами даже на всю толщу стенки сосуда. В почках имела место выраженная очаговая, главным образом внутрисосудистая и околососудистая, пролиферация клеток типа эндотелия. Аналогичные явления, но выраженные в меньшей степени, наблюдались вокруг почечных клубочков и на отдельных участках по ходу тонких соединительнотканных прослоек между извитыми канальцами. Набухание эндотелия отмечалось также в отдельных сосудистых почечных клубочках.

В селезенке явления умеренной гиперплазии наблюдались со стороны лимфоидных фолликулов, эндотелия кровеносных сосудов и клеток селезеночной пульпы. Гиперплазия эндотелия и элементов адвентиции имела место в мелких кровеносных сосудах брыжейки. Пролиферативная реакция отмечалась также со стороны соединительнотканного покрова брыжейки. В этом же периоде обнаруживались регрессивные явления в виде единичных мелкоточечных кровоизлияний в тканях печени и брыжейки. В почках, в отдельных небольших группах клеток покровного эпителия извитых канальцев, обнаруживались умеренно выраженные явления паренхиматозной и водяночной дистрофии.

У мышей, которым вводили иманин на протяжении 10 суток (вторая группа), пролиферативная реакция со стороны РЭС была выражена значительно интенсивнее, чем у животных первой группы. Однако и дистрофические явления проявились у них более отчетливо.

В печени подопытных животных пролиферативная реакция наблюдалась по ходу мелких и среднего калибра кровеносных сосудов. Местами клеточные элементы в процессе пролиферации располагались вокруг сосуда наподобие муфт. Выраженная пролиферация отмечалась и со стороны капсулы органа, причем в ткани капсулы обнаруживались многочисленные скопления клеток лимфоидного типа. Наблюдалось набухание купферовских клеток.

Характер морфологических изменений в тканях почки выразился в виде пролиферативной реакции со стороны капсулы органа. Очаговая пролиферативная реакция отмечалась вокруг почечных клубочков в межканальцевой соединительной ткани и вокруг мелких кровеносных сосудов. Кровеносные сосуды поч-

ки, как мелкого калибра, так и более крупные, были расширены и заполнены эритроцитами.

В селезенке наблюдалась резко выраженная гиперемия кровеносных сосудов. Пролиферативная реакция отмечалась со стороны лимфоидных фолликулов, эндотелия венозных синусов и, частично, пульпы органа. В пульпе же селезенки наблюдалось появление единичных многоядерных, гигантского типа, клеток. В брыжейке отмечалось набухание и гиперплазия эндотелия кровеносных сосудов и значительная лимфоидная инфильтрация по ходу соединительнотканных прослоек.

Регрессивные изменения в органах этой группы животных проявились в виде выраженной зернистой дистрофии в паренхимных элементах печени и паренхиматозной дистрофии в эпителии извитых и отчасти прямых канальцев в почках.

Результаты изучения фагоцитарной реакции у мышей, получавших иманин, показали изменение этой реакции в зависимости от продолжительности применения данного антибиотика. Было установлено, что на первые и вторые сутки после введения подопытным мышам взвеси убитых стафилококков нейтрофилы у них составляли 68—83% клеток брюшного эксудата. Напротив, полибласты и макрофаги встречались только единичные. На четвертые—пятые сутки опыта содержание нейтрофилов в брюшном эксудате понижалось до 18—38%, содержание полибластов возрастало до 11%, появлялось значительное количество макрофагов; последние составляли в это время 52—89% клеток эксудата. Фагоцитоз протекал чрезвычайно интенсивно. Макрофаги были буквально переполнены микробами, клетками эксудата и в особенности нерастворившимися частицами иманина.

Однако, хотя фагоцитоз был выражен исключительно интенсивно, значительная часть стафилококков оставалась не фагоцитированной. Последнее, очевидно, явилось следствием «отвлечения фагоцитоза» нерастворившимся иманином.

В более поздние сроки, на седьмые—десятые сутки опыта, макрофаги у подопытных мышей составляли 25—56% клеточных элементов брюшного эксудата. Фагоцитоз протекал интенсивно, но имело место разрушение значительной части фагоцитов. Их протоплазма становилась волокнистой, как бы клочковатой. Отмечалось сморщивание и лизис ядер.

Наши наблюдения позволяют сделать заключение, что введение мышам иманина сопровождалось у подопытных животных определенной реакцией со стороны ретикуло-эндотелиальной системы.

Характер этой реакции в значительной степени зависел от продолжительности введения антибиотика. При кратковременном введении (до 5 суток) эта реакция носила в основном положительный характер и проявлялась в активировании фагоцитоза и в пролиферативной реакции со стороны элементов

327

РЭС печени, почек, селезенки и брыжейки. Удлинение сроков введения иманина до 10 суток, наряду с усилением активности РЭС, сопровождалось развитием регрессивных явлений, выразившихся в разрушении части клеток брюшного эксудата и появлении зернистой и паренхиматозной дистрофии в клетках печени и почек.

ЛИТЕРАТУРА

Морозова Н. П., Применение иманина при ожогах, В сб.: «Иманин — новый растительный антибиотик», К., 1954.

Трошина Л. Н., «Лечение инфицированных ран иманином», Там же.

Кит С. М., Вплив іманіну на перебіг гострого асептичного запалення, Тези допов. звітн. наук. конфер. Станісл. мед. ін-ту, 1956.

ОПЫТ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ДЕЙСТВИЯ АНТИБИОТИКОВ ИЗ ЗВЕРОБОЯ ПРОНЗЕННОЛИСТНОГО

Б. Е. АЙЗЕНМАН, Т. П. МАНДРИК, Е. А. КИПРИАНОВА

Институт микробиологии АН УССР

Возникновение опухолевого роста трактуется рядом авторов как нарушение нормального процесса регенерации ткани, вне зависимости от того, какими причинами было вызвано это нарушение. В качестве одного из агрументов в пользу этой концепции Б. П. Токин (1959) приводит данные об изменении регенерационной способности тканей канцерогенными веществами.

Б. П. Токин предполагает, что вещества, стимулирующие регенерацию тканей, могут способствовать нормализации регенеративных процессов и прекращению опухолевого роста. Исходя из этого предположения, мы испытывали противоопухолевое действие иманина — антимикробного препарата, полученного В. Г. Дроботько и др. (1954) из зверобоя пронзеннолистного, обладающего наряду с антибактериальными и иными свойствами ярко выраженной способностью стимулировать регенерацию ткани (Иванова, 1954; Морозова, 1954; Трошина, 1954). Параллельно с иманином мы испытали противоопухолевое действие иманина А и новоиманина, также полученных из зверобоя пронзеннолистного и отличающихся от иманина значительно более высокой антибактериальной активностью и рядом других свойств (см. статью Н. А. Дербенцевой в настоящем сборнике).

Мы изучали действие всех названных выше препаратов in vitro и in vivo. In vitro испытывалось цитотоксическое действие препаратов, а также их влияние на предложенные Г. Ф. Гаузе и др. (1958) для отбора противоопухолевых препаратов мутанты стафилококков штамма № 209 (УФ-2 и УФ-3). Кроме того, было испытано инактивирующее действие препаратов на вне-

клеточный бактериофаг кишечной палочки, который, по нашим данным (1960), также может служить показателем активности некоторых групп веществ по отношению к раковым клеткам.

In vivo испытывалось лечебное действие всех трех антибиотиков из зверобоя на аденокарциному Эрлиха.

Цитотоксическое действие препарата изучалось в нескольких модификациях.

В первой из них испытывалось влияние различных концентраций иманина, иманина А и новоиманина на нативные клетки асцит-карциномы Эрлиха. Равные количества асцитической жидкости и растворов препаратов выдерживали при температуре +4° С на протяжении четырех часов, затем рассматривали под микроскопом в капле 0,1%-ного водного раствора конго красного или других индикаторных красителей. По соотношению окрашенных и неокрашенных клеток судили о цитотоксическом эффекте препарата (см. наши работы 1959 г.). После просмотра смесь асцитической жидкости с препаратом исследовали на мышах по способу В. А. Талызиной (1956); о снижении жизнеспособности клеток судили по степени торможения роста опытных опухолей в сравнении с контрольными. Контролем служили опухоли, возникшие вследствие прививки тем же мышам асцитической жидкости после контакта ее с растворителями.

Таблица 1

Действие иманина, иманина А и новоиманина на раковые клетки асциткарциномы Эрлиха (in vitro)

Препараты	Дозы (в γ/мл)	Испытание асцитической жидкости после четырехчасового контакта при +4° С		
		Количество окрашенных („мертвых") клеток (в %)	Испытание на мышах по способу В. А. Талызиной	
			количество мышей	% торможения
Иманин . . .	5000	10	8	0
Иманин А . .	2000	15—20	11	20
Новоиманин .	2000	15—20	8	26

В табл. 1 приведены данные испытания in vitro цитотоксического действия препаратов на клетки асциткарциномы Эрлиха. Из табл. 1 видно, что ни один из испытанных препаратов не обладает высоким цитотоксическим действием на асциткарциному Эрлиха. Наименее токсичен иманин.

В другой серии опытов in vitro испытывалось цитотоксическое действие препаратов на тканевые культуры опухолей человека. Исследовались линии опухолевых клеток: рака шейки матки (HeLa), рака гортани (Нер-2), рака носоглотки (КВ), рака поджелудочной железы (РПЖ), ангиосаркомы (AS); помимо

них испытывалось действие препаратов на две культуры нормальных тканей — эпителия кожи человека (Эп) и эндотелия сердца обезьяны циномольгус (СОЦ). Все культуры были получены нами из Института экспериментальной и клинической онкологии АМН СССР, за исключением культур КВ и HeLa, полученных из Киевского института эпидемиологии и микробиологии.

Опыты были поставлены во флаконах Карреля на среде Моргана и др. 199, содержащей 10% сыворотки крови человека (для культур Эп, РПЖ, AS), и на среде с гидролизатом лактальбумина и 10% человеческой сыворотки (для культур Нер-2, HeLa, КВ и СОЦ). Во флаконы вносилось приблизительно по 150 000 трипсинизированных клеток и различные количества препаратов. Наблюдение за развитием культур проводили ежедневно на протяжении четырех дней, отмечая характер и интенсивность их роста, а также наличие и степень дегенерации клеток.

В другой модификации растворы препаратов добавляли к уже выросшим культурам (через 3 дня после посадки). Опыты повторяли 2—3 раза. Сводные данные исследований действия препаратов на культуры тканей приведены в табл. 2.

Таблица 2

Сводные данные испытаний цитотоксического действия иманина, иманина А и новоиманина на культуры опухолевых и нормальных тканей

Препараты	Влияние культуры	Культуры тканей			Концентрация препаратов (в γ/мл)			
		HeLa	Нер-2	КВ	РПЖ	AS	Эп	СОЦ
Иманин	Полная дегенерация клеток	1000	1000	1000	0*	1000	1000	1000
	Нормальный рост	100	100	100	0	100	100	100
Иманин А	Полная дегенерация клеток	100	100	100	100	100	100	100
	Нормальный рост	10	10	10	10	10	10	10
Новоиманин	Полная дегенерация клеток	100	100	100	100	100	100	100
	Нормальный рост	10	10	10	10	10	10	10

* 0 — не испытывалось.

В табл. 2 приведены средние показатели всех опытов, поскольку данные, полученные при использовании обеих методик, почти полностью совпали. Приводятся лишь два показателя — наименьшие концентрации препаратов, полностью тормозящие рост и вызывающие дегенерацию клеток, и наибольшие кон-

центрации, не оказывающие влияния на рост культуры и морфологию клеток.

Из табл. 2 видно, что избирательности действия препаратов на нормальные и опухолевые клетки не имеется. Не обнаруживается разницы и в чувствительности разных видов опухолей ко всем трем препаратам. Наименее токсичен по отношению ко всем культурам иманин.

Таким образом, высокой цитотоксической активностью по отношению к раковым, а также нормальным клеткам, как показали все проведенные опыты, изученные антибиотики из зверобоя не обладают, хотя в относительно невысокой концентрации 100 γ/*мл* иманин А и новоиманин задерживают рост культур тканей.

Дальнейшие испытания этих препаратов in vitro были направлены на выяснение возможного действия их на отдельные звенья обмена веществ раковых клеток. В качестве тестов для выявления этого влияния были использованы мутанты стафилококка УФ-2 и УФ-3, полученные Г. Ф. Гаузе и др. (1958). По данным авторов, эти мутанты отличаются от исходного штамма № 209 дефектом окисления и поражением цитохромных систем, т. е. типом обмена, частично сходным с таковым у раковых клеток.

Поэтому сравнение степени антибактериального действия препаратов на штамм № 209 и мутанты представляет определенный интерес. Мы провели испытание чувствительности перечисленных культур ко всем препаратам методом серийных разведений на мясопептонном бульоне при засеве 2 млн. клеток на 1 *мл* среды. Учет действия препаратов проведен по бактериостатической концентрации для штамма № 209 через одни сутки, а для медленно растущих мутантов — через двое суток. Полученные данные приведены в табл. 3.

Таблица 3

Чувствительность стафилакокков (штамм № 209 и мутанты УФ-2 и УФ-3) **к иманину, иманину А и новоиманину**

Препараты	Бактериостатические концентрации в разведениях		
	штамм № 209	мутант УФ-2	мутант УФ-3
Иманин	1:100 000	1:100 000	1:100 000
Иманин А	1:500 000	1:500 000	1:500 000
Новоиманин . .	1:250 000	1:250 000	1:250 000

Примечание. Бактериостатическая активность образцов новоиманина и иманина А, использованных в настоящем опыте, при засеве на 1 *мл* среды 200 000 бактерий штамма № 209 составляла 1 : 2,5 млн.

Из табл. 3 видно, что степень чувствительности штамма № 209 и мутантов к каждому препарату одинакова, что может

объясняться отсутствием влияния антибиотиков из зверобоя на особенности окислительных процессов у мутантов, а по аналогии, возможно, и раковых клеток.

Нами ранее было показано (1960), что некоторые препараты, оказывающие влияние на раковые клетки, инактивируют внеклеточный бактериофаг кишечной палочки № 163. При испытании ряда противоопухолевых веществ, применяемых в клинике, оказалось, что в разной степени инактивируют бактериофаг только алкилирующие хлорэтиламины и этиленимины (эмбихин, новоэмбихин, ТиоТЭФ, дегранол, A_4, этимидин, эмбитол), но не 6-маркаптопурин, принадлежащий к другой группе соединений.

Поскольку механизм действия алкилирующих хлорэтиламинов на раковые клетки, по литературным данным, заключается, главным образом, в их влиянии на нуклеиновые кислоты, мы предположили, что подобный же механизм действия может иметь место и по отношению к бактериофагу (влияние на ДНК). В связи с этим мы предложили использовать бактериофаг как один из вспомогательных тестов для выявления препаратов, действующих на нуклеиновый обмен раковых клеток.

Опытами, проведенными С. И. Зелепухой *, было показано, что все три препарата из зверобоя не инактивируют внеклеточный бактериофаг кишечной палочки, что мы предположительно рассматриваем как отсутствие их действия на нуклеиновые кислоты.

В последней серии опытов изучалось терапевтическое действие иманина, иманина А и новоиманина на мышах при асцит-карциноме Эрлиха.

Таблица 4

Результаты лечения иманином, иманином А и новоиманином мышей с трансплантатами аденокарциномы Эрлиха

Препараты	Дозы (в *мг*)	Количество мышей	Торможение развивающихся опухолей (в %)
Иманин	0,5	10/9	0
Иманин А	0,5	10/10	0
Новоиманин . .	0,5	10/10	10

Обозначения: 0 — отсутствие торможения; в числителе количество мышей в опыте, в знаменателе количество животных, выживших к концу опыта.

Мышам, по 10 в каждой группе, инокулировали подкожно асцитическую жидкость. Спустя 4—5 дней, когда у мышей уже развивались опухоли, начинали вводить им препараты подкожно, в дозах 0,5 *мг* на мышь, ежедневно на протяжении 10 дней.

* См. статью С. И. Зелепухи и П. Я. Починок в настоящем сборнике.

По истечении этого срока мышей убивали, опухоли вылущивали, взвешивали и сравнивали их вес с весом опухолей у нелеченных мышей (последним вводился растворитель). Результаты этих исследований приведены в табл. 4.

Из табл. 4 видно, что лечебным эффектом в испытанных дозах все изученные препараты при раке Эрлиха мышей не обладают.

Однако известно, что разные опухоли имеют различную чувствительность к одним и тем же веществам, и не исключено, что при исследовании препаратов из зверобоя на других видах опухолей животных, а также при других способах их применения могут быть получены иные результаты.

ЛИТЕРАТУРА

Айзенман Б. Ю., Мандрик Т. П., Швайгер М. О., «Мікробіол. журн. АН УРСР», т. XXI, № 2, 1959.

Айзенман Б. Ю., Мандрик Т. П., Швайгер М. О., Кіприянова О. А., «Мікробіол. журн. АН УРСР», т. XXI, № 5, 1959.

Айзенман Б. Е., Швайгер М. О., Мандрик Т. П., Зелепуха С. І., Кіприянова О. А., «Мікробіол. журн. АН УРСР», т. XXII, № 6, 1960.

Гаузе Г. Ф., Вестник АМН СССР, № 1, 1958.

Гаузе Г. Ф., Кочеткова Г. В., Владимирова Г. Б., ДАН СССР, т. 117, № 4.

Дроботько В. Г., Айзенман Б. Е., Кисель П. И., Швайгер М. О., Зелепуха С. И., в сб. «Иманин — новый растительный антибиотик», К., 1954.

Иванова Н. А., в сб. «Иманин — новый растительный антибиотик», К., 1954.

Морозова Н. П., Там же.

Талызина В. А., Антибиотики, № 5, 1956.

Токин Б. П., Регенерация и соматический эмбриогенез, Л., 1959.

Трошина Л. Н., в сб. «Иманин — новый растительный антибиотик», К., 1954.

ДЕЙСТВИЕ ИМАНИНА НА ВИРУС ТАБАЧНОЙ МОЗАИКИ

А. Д. БОБЫРЬ

Институт микробиологии АН УССР

Иманин обладает антибиотическими свойствами против ряда фитопатогенных бактерий и других микроорганизмов (Дроботько и др., 1954). Это побудило нас испытать его и против фитопатогенных вирусов. Действие иманина изучалось на вирусе табачной мозаики (ВТМ) — сильно вирулентном штамме типа аукуба.

В результате предварительных исследований в 1957 г. было установлено, что иманин обладает свойством подавлять данный вирус in vitro и in vivo в изолированных листьях *N. glutinosa*. Некоторые результаты этих опытов приведены в табл. 1 и 2.

Таблица 1

Действие иманина на вирус табачной мозаики in vitro*

Концентрация иманина (в %)	Продолжительность контакта с вирусом (в мин.)	Число некрозов на 10—15 половинках листьев *N. glutinosa*		
		в опыте	в контроле	в опыте, в % от контроля
0,1	60	106	144	74
0,1	120	172	338	51
0,3	120	165	345	48
0,7	5	90	300	30
0,7	20—22	40	310	13
0,7	60—62	30	420	7

* Вирус контактировался с раствором иманина и затем втирался в листья *Nicotiana glutinosa*.

Из приведенных данных видно, что in vitro иманин в зависимости от концентрации и продолжительности действия на вирус в большей или меньшей степени подавляет развитие некрозов на изолированных листьях *N. glutinosa*.

Значительное подавляющее действие на развитие инфекции оказывал иманин in vivo в том случае, когда изолированные листья *N. glutinosa* заражались вирусом. В разных вариантах опытов листья обрабатывались растворами иманина перед заражением или после него (табл. 2).

Таблица 2

Действие иманина на развитие вирусной инфекции в изолированных листьях *N. glutinosa*

(листья обрабатывали 0,1%-ным раствором вещества)

Время обработки листьев раствором иманина	Число некрозов на 10—15 половинках листьев *N. glutinosa*		
	в опыте	в контроле	в опыте, в % от контроля
В момент заражения	220	570	38
За 2 часа до заражения	170	375	45
За 6 часов до заражения	102	216	47
Через 6 часов после заражения . .	169	233	72
Через 24 часа после заражения . .	121	249	49

Можно видеть, что иманин действует на вирус и в том случае, когда он находится в растении, причем наиболее сильно при обработке иманином в момент заражения.

В дальнейших опытах антивирусные свойства иманина изучались более детально. Опыты ставились по ранее описанной нами методике на изолированных листьях табака (*Nicotiana tabacum* L.) сорта Гавана, отвечающего на заражение вирусом не местной некротической реакцией, а общим заболеванием. Учет действия иманина в этих опытах проводился путем биологического титрования вируса, содержащегося в средних пробах опытных и контрольных листьев табака, на индикаторных листьях *N. glutinosa* L., которые отвечают на вирус образованием некрозов (Бобырь, 1959). Результаты опытов есть в табл. 3 и 4.

Из табл. 3 видно, что при ежедневной обработке изолированных листьев табака старшего возраста указанными растворами иманина на протяжении четырех дней (начиная со дня их заражения) титр вируса в них снижался до 35—27% от контроля. Дальнейшее увеличение концентрации растворов и продолжительности их воздействия не вызывало заметного повышения активности.

На очень молодых индикаторных листьях, которые более чувствительны к вирусу табачной мозаики, титр вируса был значительно выше, а при малых концентрациях иманина даже выше, чем в контроле. С увеличением концентрации растворов и продолжительности их воздействия на листья разница между титром вируса на индикаторных листьях очень молодого и стар-

Таблица 3

Действие иманина на вирус табачной мозаики (ВТМ) в изолированных листьях табака (*N. tabacum* L.), сорт Гавана

(листья обрабатывали растворами ежедневно на протяжении 4 дней)

Концентрация иманина (в %)	Титр ВТМ в некрозах на 10—15 половинках листьев *N. glutinosa*					
	очень молодого возраста			старшего возраста		
	в опыте	в контроле	в опыте, в % от контроля	в опыте	в контроле	в опыте, в % от контроля
0,01	194	116	167	124	350	35
0,05	105	69	152	84	282	30
0,1	121	156	78	74	252	29
0,1*	118	273	43	70	256	27

* Листья обрабатывали растворами ежедневно на протяжении 7 дней.

шего возраста заметно уменьшалась. Таким образом, активность иманина в определенной степени зависит от концентрации применяемых растворов и продолжительности их воздействия на листья. Установлено, что иманин во всех испытуемых дозах задерживает развитие инфекции в листьях табака, но не убивает вирус, а лишь в большей или меньшей степени его инактивирует.

Аналогичные результаты получены и при изучении действия иманина на вирус табачной мозаики в целом растении табака, сорт Гавана, в условиях полевого мелкоделяночного опыта. Мозаичные растения табака через 20 и 40 дней после их заражения опрыскивались ежедневно на протяжении 3 и 6 дней растворами иманина, и результаты учитывались путем титрования на листьях *N. glutinosa* (табл. 4).

Как видно из табл. 4, при ежедневном опрыскивании мозаичных растений табака растворами иманина на протяжении трех дней титр вируса в них сильно снижался и составлял 41—45% от контроля (учет на индикаторных листьях *N. glutinosa* старшего возраста). Увеличение продолжительности опрыскивания до шести дней не вызывало значительного повышения его эффективности (она была выше при опрыскивании растений через 20 дней после заражения, чем через 40 дней). С увеличением концентрации иманина и удлинением срока обработки титр вируса значительно снижался при титровании на очень молодых листьях *N. glutinosa*.

Из полученных данных следует, что иманин не вызывает полной инактивации вируса; степень ее зависит от концентрации и продолжительности воздействия иманина на листья или ра-

Таблица 4

Действие иманина на вирус табачной мозаики в целых растениях табака (*N. tabacum*), сорт Гавана

Концентрация иманина (в %)	Титр ВТМ в некрозах на 10—15 половинках листьев *N. glutinosa*					
	очень молодого возраста			старшего возраста		
	в опыте	в контроле	в опыте, в % от контроля	в опыте	в контроле	в опыте, в % от контроля
Растения опрыскивали растворами ежедневно на протяжении 3 дней						
0,15*	126	181	70	30	196	15
0,01	108	100	108	104	252	41
0,05	128	156	82	131	399	33
0,15	85	131	65	62	192	32
Растения опрыскивали растворами ежедневно на протяжении 6 дней						
0,15*	187	393	48	90	528	16
0,01	155	160	97	62	204	30
0,05	130	180	72	105	288	35
0,15	77	219	35	30	134	23

* Опрыскивание растений начато через 20 дней после заражения.

стения. Подбирая соответствующие условия обработки, иманин можно использовать с терапевтической целью.

Известно, что вирус табачной мозаики, как и другие фитопатогенные вирусы, быстрее размножается, а следовательно, и накопляется в тканях молодых растений, чем в более развитых или старых. Поэтому весьма интересно было испытать эффективность иманина на растениях в молодом возрасте. Опыты ставились в теплице на рассаде табака в возрасте двух и семи настоящих листьев и на месячной рассаде томатов сортов Маяк и Донецкий. Опытные растения опрыскивались растворами иманина ежедневно на протяжении трех и семи дней. Учет эффективности, как и ранее, проводился путем титрования вируса, содержащегося в средних пробах листьев из опытных и контрольных растений, на индикаторных листьях *N. glutinosa*. Результаты этих опытов приведены в табл. 5 и 6.

Из этих данных видно, что иманин весьма активен и на молодых растениях табака, причем активность его на рассаде в возрасте двух настоящих листьев была выше при опрыскивании растений, начатом через семь дней после заражения, чем со дня заражения. При семиразовом опрыскивании рассады табака в возрасте семи листьев, начатом за четыре дня до заражения и законченном через три дня после него, титр вируса снижался значительно сильнее, чем при опрыскивании, начатом за два дня до заражения и законченном через пять дней после

Таблица 5

Действие иманина на вирус табачной мозаики в молодых растениях табака (*N. tabacum*), сорт Гавана

Начало опрыскивания растений растворами иманина	Продолжительность опрыскивания в днях	Титр ВТМ в некрозах на 10 половинках листьев *N. glutinosa*		
		в опыте	в контроле	в опыте, в % от контроля
На рассаде в возрасте двух настоящих листьев (0,1%-ный раствор)				
С момента заражения .	3	60	126	48
Через 7 дней после заражения	3	84	270	31
На рассаде в возрасте семи настоящих листьев (0,15%-ный раствор)				
За 4 дня до заражения и закончено через 3 дня после него	7	36	114	32
		33	154	21*
		48	210	23**
За 2 дня до заражения и закончено через 5 дней после него	7	54	78	69
		84	114	74*
		116	142	82**

* Титр вируса в растениях через три недели после опрыскивания.
** Титр вируса в растениях через четыре недели после опрыскивания.

Таблица 6

Действие иманина (0,1%-ный раствор) **на вирус табачной мозаики в молодых растениях томатов**
(сорта Донецкий, Маяк)*

Начало опрыскивания растений раствором иманина	Титр ВТМ в некрозах на 10—12 половинках листьев *N. glutinosa*		
	в опыте	в контроле	в опыте, в % от контроля
Сорт Донецкий			
Со дня заражения	220	125	176
За 7 дней до заражения	12	150	8
Сорт Маяк			
Со дня заражения	135	120	113
За 7 дней до заражения	9	154	6

* Растения опрыскивались раствором семь раз.

него. Интересно отметить и то, что титр вируса в опытных растениях почти не изменялся через три и четыре недели после прекращения опрыскивания. Таким образом, антивирусный эффект, обусловленный иманином, был довольно длительным.

Из табл. 6 видно, что при опрыскивании рассады, начатом со дня заражения, иманин на томатах сорта Маяк не давал эффекта, а на растениях сорта Донецкий даже сильно стимулировал накопление вируса. При опрыскивании же рассады за семь дней до заражения иманин резко подавлял накопление вируса в обоих сортах томатов.

Из этих данных (табл. 5 и 6) видно, что иманин на табаке и томатах обладает профилактическим действием, причем это действие намного выше терапевтического.

Большой интерес представляло выяснение вопроса о профилактическом и терапевтическом действии иманина в природных условиях в зависимости от вида и сорта растения. Исследования велись в условиях полевого мелкоделяночного опыта. Опыты ставились на табаке — сорт Гавана и томатах сорта Донецкий, Маяк, Марглоб.

При испытании профилактического действия иманина растения табака и томатов в молодом возрасте, на стадии начала бутонизации, опрыскивались перед заражением пять раз 0,05%-ным раствором антибиотика ежедневно или с интервалом в три или пять дней. Через четыре дня после окончания опрыскивания растения заражались вирусом и через 8—10 дней после этого из опытных и контрольных растений брались средние пробы для учета количества в них вируса.

При испытании терапевтического действия иманина растения в этом же возрасте сперва заражались вирусом и после отчетливого проявления на них симптомов заболевания подвергались соответствующей обработке раствором антибиотика.

Результаты этих опытов на табаке приведены в табл. 7. Они показали, что иманин, примененный перед заражением табака, проявлял очень сильное профилактическое действие. Особенно эффективным он был при опрыскивании растений с интервалом в три дня. Профилактическое действие на растениях, которые опрыскивались ежедневно или с интервалом в пять дней, было значительно слабее. Терапевтическое действие было значительно слабее профилактического. Наиболее активным он был при ежедневном опрыскивании растений, менее активным — при опрыскивании растений с интервалом в три дня. На растениях, которые опрыскивались с интервалом в пять дней, иманин оказывал стимулирующее действие на развитие инфекции.

При испытании профилактического и терапевтического действия иманина на томатах были использованы два наиболее чувствительных к вирусу мозаичной болезни сорта — Донецкий и Маяк — и один менее чувствительный — сорт Марглоб. Результаты этих опытов приведены в табл. 8. Эффективность има-

Таблица 7

Профилактическое и терапевтическое действие иманина (0,05%-ный раствор) на табаке, сорт Гавана

Частота обработки растений раствором иманина	Титр вируса в некрозах на 10—12 половинках листьев *N. glutinosa*		
	в опыте	в контроле	в опыте, в % от контроля
Профилактическое действие			
Ежедневное опрыскивание	325	563	57
С интервалом в три дня	15	470	2
С интервалом в пять дней	120	280	43
Терапевтическое действие			
Ежедневное опрыскивание	127	267	48
С интервалом в три дня	240	373	64
С интервалом в пять дней	286	204	140

нина на томатах учитывалась не только путем биологического титрования на содержание вируса в растении, но и по прибавке урожая плодов на опытных растениях в сравнении с контрольными.

Как видно из табл. 8, иманин обладал сильным профилактическим действием и на томатах, снижая титр вируса в растении до 33—19% от контроля. Урожай плодов в этом случае повышался на 11—38% по сравнению с контрольными не обработанными растениями. Бóльшая активность проявлялась на сортах Маяк и Марглоб, чем на сорте Донецкий. По прибавке урожая он был наиболее эффективным на сорте Марглоб.

Таблица 8

Профилактическое и терапевтическое действие иманина (0,05%-ный раствор) на томатах разных сортов

Сорт томатов	Титр вируса в некрозах на 10—12 половинках листьев *N. glutinosa*			Прибавка урожая плодов на растении (в % от контроля)
	в опыте	в контроле	в опыте, в % от контроля	
Профилактическое действие				
Донецкий	37	112	33	15
Маяк	40	210	19	11
Марглоб	50	270	19	38
Терапевтическое действие				
Донецкий	99	171	57	9
Маяк	59	129	46	17

Терапевтическое действие иманина на томатах (Донецкий и Маяк) было значительно слабее профилактического. Титр вируса в растениях снижался до 58 и 46% от контрольных, прибавка урожая в этом случае составляла 9 и 17% соответственно.

В 1958 г. мы обратили внимание на то, что растворы иманина при опрыскивании растений заметно стимулировали рост табака и томатов, особенно их листвы. При ориентировочном подсчете площадь листвы увеличивалась в 1,5—2 раза. Это побудило нас детальнее исследовать влияние иманина на растение, на его рост, развитие, урожай. Опыты ставились на табаке сорта Гавана и томатах сорта Донецкий. Здоровые растения в молодом возрасте в начале стадии бутонизации опрыскивались ежедневно на протяжении пяти дней 0,05%-ным раствором иманина, фенологические наблюдения за растениями велись на протяжении всего вегетационного периода. Результаты действия иманина на растение приведены в табл. 9.

Таблица 9

Влияние иманина на развитие табака и томатов

Средние данные трех повторностей на 20 растениях	Опыт	Контроль	Отношение опыта к контролю (в %)
Томаты, сорт Донецкий			
Средний рост растений (в *см*) . . .	57,9	51,9	112
Общий вес листьев (в *кг*)	3,225	2,112	154
Общий вес корней (в *кг*)	0,708	0,684	104
Урожай плодов (в *кг*)	19,606	17,780	110
Вес сухого вещества в 1 *г* свежих листьев	0,8748	0,8684	102
Табак, сорт Гавана			
Средний рост растений (в *см*) . . .	147	128	115
Общий вес листьев (в *кг*)	40,592	25,131	162
Общий вес корней (в *кг*)	2,514	2,320	108
Вес сухого вещества в 1 *г* свежих листьев	0,7632	0,7557	101

Из табл. 9 видно, что 0,05%-ный раствор иманина после пятиразового опрыскивания растений заметно стимулировал рост табака и томатов, особенно их листву (больше, чем в полтора раза). Сухого вещества в листьях табака и томатов в этом случае было больше, чем в контрольных неопрыскиваемых растениях соответственно на 1 и 2%. Урожай томатов был выше, чем в контроле, на 10%, а табака — больше, чем в полтора раза. На длительность фаз развития и сроки созревания урожая иманин заметного влияния не оказывал.

Согласно литературным данным, у фитопатогенных вирусов и в частности у вируса табачной мозаики имеется латентная фаза, в течение которой происходит размножение вируса. Полагают, что эта фаза переходит в стадию зрелых частиц вируса, приобретающих свойство инфекционности. В связи с этим большой интерес представляло испытать действие иманина на вирус табачной мозаики в ранний период его развития в неинфекционном состоянии и в период, когда он приобретает инфекционность. Эти опыты могут дать более определенные указания на зависимость антивирусного действия иманина от состояния вируса в растении. Опыты ставились по методике, сходной с описанной Суховым и Капица (1956).

Изолированные листья *N. glutinosa* заражались вирусом табачной мозаики с примесью порошка карборунда, который значительно увеличивает при натирании число поранений, и следовательно, возможность проникновения в клетки вируса. Излишки вируса и карборунд смывались проточной водой, и листья помещались в термостат, где выдерживались в условиях влажной камеры в темноте при 28° С. Через 12 часов — в одном случае и через 18 — в другом листья разрезали на половинки и одни из них, опытные, помещали морфологически нижней стороной на раствор антибиотика, а другие, контрольные, — на воду и выдерживались в тех же условиях еще шесть часов. После этого опытные половинки тщательно отмывались от вещества проточной водой и вместе с контрольными помещались во влажную камеру, где они содержались при комнатной температуре еще шесть часов. Затем с нижней стороны подопытных и контрольных половинок листа снимали эпидермис и уравнивали по площади. Из опытного и контрольного эпидермиса готовили путем растирания в небольшом количестве воды средние пробы, количество и активность вируса в которых определяли с помощью специфической антисыворотки и биологического титрования на индикаторных листьях *N. glutinosa*.

Таблица 10

Действие иманина (0,1%-ный раствор) **на вирус табачной мозаики в ранний период его развития в эпидермисе листьев *N. glutinosa***

Время выдерживания подопытных листьев на растворе	Титр вируса в опыте (в % от контроля)*	
	А	Б
Между 12—18 часами после заражения	157	150
„ 18—24 „ „ „	23	60

* А — биологический титр вируса, Б — серологический титр вируса в разведениях.

Как видно из приведенных выше данных, иманин при действии на эпидермис листьев *N. glutinosa* в ранний период развития в нем вирусной инфекции, когда инфекционность вируса и его количество определить при помощи имеющихся методов испытания еще не удается, способствует развитию вируса и даже стимулирует его накопление более чем в полтора раза. При обработке эпидермиса несколько позже, когда инфекционность или количество вируса начинает уже обнаруживаться в эпидермисе и быстро возрастать, иманин заметно подавляет инфекционность вируса и его накопление. Эти опыты показывают, что действие одного и того же вещества может проявляться по-разному в зависимости от состояния вируса в растении.

Выводы

1. Иманин обладает антивирусным действием к вирусу табачной мозаики in vitro и in vivo, степень которого зависит от концентрации применяемых растворов антибиотика и продолжительности их воздействия.

2. Иманин обладает сильным профилактическим, а также и некоторым терапевтическим действием при мозаичной болезни табака и томатов. Подавляя развитие вирусной инфекции в растении, он заметно улучшает его состояние и повышает урожай.

3. На профилактическое и терапевтическое действие иманина оказывает влияние частота обработки растений. В профилактических опытах бóльший эффект дает опрыскивание растений растворами антибиотика с интервалом в три и пять дней, чем ежедневное опрыскивание. В терапевтических опытах, наоборот, бóльший эффект дает более компактное, т. е. ежедневное опрыскивание растений.

4. Профилактическое и терапевтическое действие иманина зависит в определенной степени от видовой и сортовой специфики растения-хозяина.

5. Иманин оказывает значительное стимулирующее действие на рост растений табака и томатов.

6. Результаты, полученные с иманином в условиях полевого мелкоделяночного опыта на табаке и томатах, говорят о перспективности использования его в практике.

ЛИТЕРАТУРА

Бобир А. Д., Вплив деяких антибіотиків на вірус тютюнової мозаїки, ДАН УРСР, № 12, 1959.

Дроботько В. Г., Айзенман Б. Е., Кисель П. И., Швайгер М. О., Зелепуха С. И., Иманин — новый растительный антибиотик, сб. «Иманин — новый растительный антибиотик», Изд-во АН УССР, 1954.

Сухов К. С. и Капица О. С., Размножение вируса табачной мозаики в первые часы после инокуляции листьев Nicotiana glutinosa, ДАН СССР, т. 105, 1346, 1955.

НЕКОТОРЫЕ ДАННЫЕ О ХАРАКТЕРЕ ДЕЙСТВИЯ ИМАНИНА НА ВИРУС ТАБАЧНОЙ МОЗАИКИ В РАСТЕНИИ

А. Д. БОБЫРЬ

Институт микробиологии АН УССР

При экспериментальном исследовании антивирусной активности иманина в зависимости от концентрации и продолжительности его воздействия на вирус или растение мы часто встречались с явлением восстановления инфекционности инактивированного вируса при титровании на очень молодых индикаторных листьях *N. glutinosa* *. Это обстоятельство говорит о том, что ингибиторное действие иманина направлено на подавление инфекционности вируса. Однако оставалось невыясненным отношение иманина к размножению вируса, к его накоплению в растении.

Мы стремились в дальнейших опытах выяснить, задерживает ли антибиотик накопление вируса или снижает его инфекционность в растении? С этой целью в опытах на табаке и томатах действие иманина на вирус учитывали не только путем биологического титрования на индикаторных листьях *N. glutinosa,* но и серологически, с помощью специфической антисыворотки к данному вирусу. Известно, что при помощи серологического исследования можно определить количество вируса в испытуемом материале. Биологический же метод титрования на листьях *N. glutinosa* дает возможность выявить наличие активного вируса. Результаты, полученные с помощью биологического и серологического титрования вируса, взаимно дополняют друг друга и дают представление о количестве и активности вируса в растении.

Уже первые данные, полученные в лабораторных опытах на эпидермисе листьев *N. glutinosa,* показывают, что иманин в за-

---

* См. статью «Действие иманина на вирус табачной мозаики», помещенную в настоящем сборнике.

висимости от условий опыта может подавлять в растении накопление не только инфекционного вируса, но и антигена к специфической антисыворотке вируса табачной мозаики.

В дальнейшем исследования проводились на растениях табака (сорт Гавана) и томатов (сорт Маяк) в условиях полевого мелкоделяночного опыта на экспериментальной базе Института микробиологии АН УССР в 1959 г.

В профилактическом опыте молодые растения перед заражением, а в терапевтическом опыте — после него, когда на растениях отчетливо проявлялись симптомы заболевания, опрыскивались 0,05%-ным раствором антибиотика пять раз. В зависимости от частоты обработки, растения опрыскивались растворами ежедневно или с интервалом в три дня. Через пять дней после окончания опрыскивания растения заражали вирусом табачной мозаики (сильно вирулентный штамм), а спустя 10 дней учитывали содержание вируса. В терапевтическом опыте учет содержания вируса производился через пять дней после окончания опрыскивания растений. Учет содержания вируса с помощью специфической антисыворотки производился по методике, аналогичной капельному методу анализа вирусов, притятому в растениеводстве (Дунин и Попова, 1937). Сок, отжатый из листьев опытных и контрольных растений, центрифугировался при 3000 *об/мин* на протяжении 10—15 мин. для удаления из него хлоропластов и других растительных остатков. Из просветленного таким способом сока готовился путем пяти- или десятикратного разведения водой ряд проб, содержащих вирус в убывающей концентрации. Из каждой пробы бралась с помощью пастеровской пипетки капля сока и смешивалась на предметном стекле с такой же каплей антисыворотки. Предметное стекло помещалось в условия влажной камеры (чашка Петри) и выдерживалось в термостате при температуре 37° С на протяжении 30—45 мин., после чего пробы просматривались в затемненном поле микроскопа, и по разнице в интенсивности реакции преципитации, имевшей место при различных разведениях инфекционного сока, определялось относительное содержание вируса в опыте и контроле. Результаты, полученные с иманином в профилактическом опыте, приведены на рис. 1.

Из рис. 1 видно, что иманин, использованный на табаке и томатах в качестве профилактического средства, значительно подавляет накопление инфекционного вируса и антигена к специфической антисыворотке вируса табачной мозаики.

Иманин подавляет накопление инфекционного вируса и антигена в растениях табака и при терапевтическом применении (рис. 2). Однако подавление антигена в этом случае было значительно слабее, чем в профилактическом опыте.

Следует отметить, что на подавление накопления антигена, как и на подавление накопления инфекционного вируса, влияет

частота обработки растений. Так, в профилактическом опыте подавление накопления антигена было значительно бóльшим при опрыскивании растений раствором антибиотика с интервалом в три дня, чем при ежедневном. В терапевтическом опыте, наоборот, значительное подавление антигена было при ежедневном опрыскивании растений и почти отсутствовало при опрыскивании с интервалом в три дня.

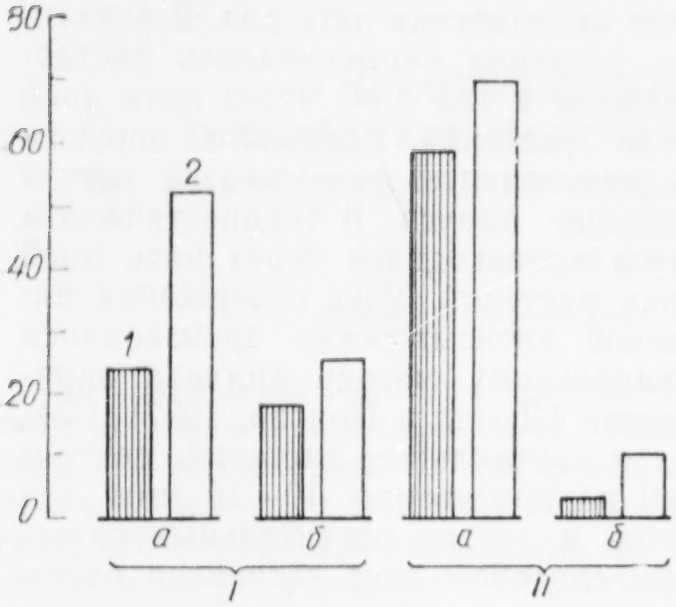


Рис. 1. Содержание вируса табачной мозаики в профилактически обработанных растениях табака (I) и томатов (II) на 10-й день после их заражения.

Биологический (*1*) и серологический (*2*) титры вируса (в % от контроля) при опрыскивании растений раствором иманина:

а — ежедневно; *б* — через три дня.

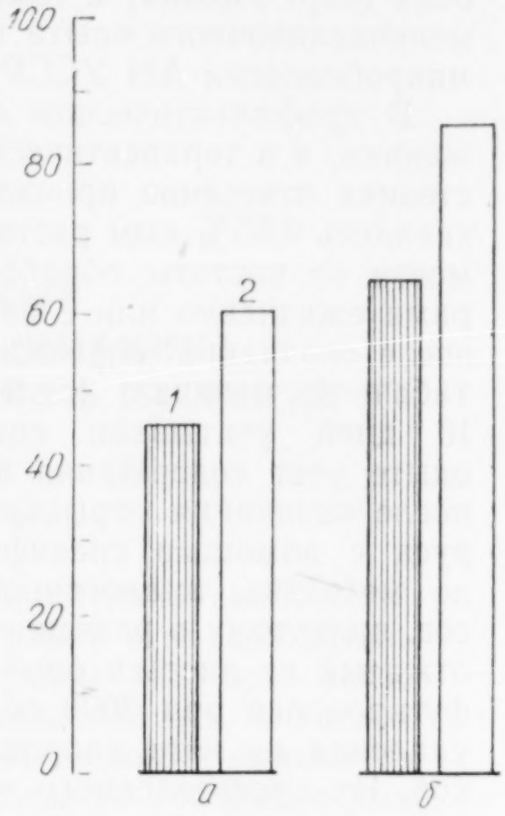


Рис. 2. Содержание вируса табачной мозаики в леченных растениях табака на 20-й день после их заражения.

Биологический (*1*) и серологический (*2*) титры вируса (в % от контроля) при опрыскивании растений раствором иманина:

а — ежедневно; *б* — через три дня.

Представляло также интерес выяснить, как действует иманин на вирус табачной мозаики в растении: через изменения в биохимических, физиологических и других процессах, протекающих в растении, или же при непосредственном контакте с вирусом? Чтобы ответить на этот вопрос, мы в опытах, где иманин использовался на табаке в качестве терапевтического средства, учитывали содержание вируса в опрыскиваемых и защищенных от опрыскивания листьях на одном и том же растении в сравнении с содержанием вируса в листьях разных растений, одни из которых опрыскивались раствором антибиотика, а другие нет.

Если антибиотик действует на вирус табачной мозаики через биохимические или физиологические процессы растения, то

содержание вируса в опрыскиваемых и защищенных от опрыскивания листьях на одном и том же растении должно быть практически одинаковым и в то же время значительно меньшим, чем в листьях неопрыскиваемых растений. Если же антибиотик действует на вирус при непосредственном контакте с ним, содержание вируса в защищенных от опрыскивания листьях должно быть значительно бóльшим, чем в опрыскиваемых листьях этого же растения, и в то же время практически таким же, как и в листьях неопрыскиваемых растений.

Листья на растении защищали от опрыскивания целлофановыми мешочками. Опрыскивание производили 0,05-ным раствором антибиотика ежедневно на протяжении пяти дней. Учет вируса производили через два дня после окончания опрыскивания. Результаты этих опытов приведены на рис. 3.

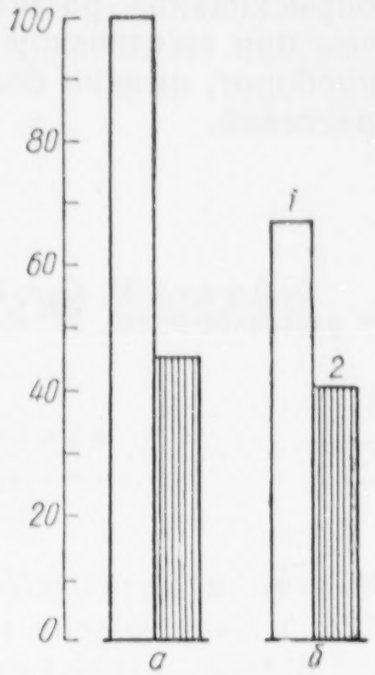


Рис. 3. Содержание вируса табачной мозаики в неопрыскиваемых (*1*) и опрыскиваемых (*2*) листьях:

а — на одном и том же растении; *б* — в таких же листьях на разных растениях.

Как видно из приведенных на рис. 3 данных, содержание вируса в неопрыскиваемых листьях было выше, чем в опрыскиваемых листьях этого же растения и значительно ниже, чем в листьях неопрыскиваемых растений. Эти данные дают основание считать, что иманин действует на вирус табачной мозаики в растении при непосредственном контакте с вирусом и через растение. В пользу этого говорит и тот факт, что иманину свойственно стимулировать рост растений табака и томатов.

Итак, установлено, что иманин, использованный на табаке и томатах в качестве профилактического и терапевтического средства, значительно подавляет накопление инфекционного вируса и антигена к специфической антисыворотке вируса табачной мозаики.

На подавление накопления антигена, как и на подавление инфекционного вируса, влияет частота обработки растений антибиотиком. Знание этого открывает дополнительные возможности для использования иманина в практике.

Выводы

1. Иманин, использованный на растениях табака и томатов в качестве профилактического и терапевтического средства, значительно подавляет накопление в растении не только инфекционного вируса, но и антигена к специфической антисыворотке вируса табачной мозаики.

2. На степень подавления накопления антигена, так же как и на подавление инфекционного вируса, оказывает влияние частота обработки растений антибиотиком. В профилактических опытах иманин проявляет более высокую активность при опрыскивании растений растворами с интервалом в три дня, чем при ежедневном опрыскивании. В терапевтических опытах, наоборот, иманин более активен при ежедневном опрыскивании растений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дунин М. С. и Попова Н. Н., Капельный метод анализа вирусов в растениеводстве, М., Сельхозгиз, 1937.

ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ИМАНИНА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ОЖОГОВ

В. Д. БРАТУСЬ, В. Д. НАЗАРЕНКО

Клиника хирургии педиатрического факультета
Киевского медицинского института

Опыт, приобретенный в результате наблюдения и лечения в клинических условиях около двух тысяч обожженных с различными степенями и распространением поражения, привел нас к заключению о нерациональности противопоставления закрытого метода лечения открытому. Больше того, наши наблюдения, как и наблюдения других авторов (И. С. Колесников, Т. Я. Арьев, Хегеман и др.), показывают, что ни один из способов местного лечения ожогов пока еще не имеет доказанного преимущества для всех случаев. Открытый и закрытый методы, так же как и многочисленные способы местного лечения, имеют свои показания. При поверхностных ожогах, относящихся к поражениям II степени, все способы, если они применяются своевременно и квалифицированно, дают хорошие результаты. Расчеты на самостоятельную эпителизацию при глубоких ожогах III степени в результате применения любых средств местной лекарственной терапии не оправданы. Только пластическое закрытие раневой поверхности лоскутами собственной кожи может завершить лечение этих больных. Грануляционная ткань располагает ограниченными возможностями для самостоятельного закрытия раны через краевую эпителизацию. Ю. Ю. Джанелидзе установил, что гранулирующая рана диаметром более 8 *см* неспособна к самостоятельной эпителизации.

Однако при ожогах, которые американские и немецкие авторы классифицируют как глубокие ожоги II степени, а советские (А. А. Вишневский) — как поверхностные ожоги III степени, сохраняются жизнеспособными сосочковый и сетчатый слой дермы — первый частично, а второй полностью. В дерме, как известно, расположены выводные протоки сальных, потовых желез и волосяные мешочки, покрытые эпителием, за счет

разрастания которого при указанной степени ожогов возможна так называемая островковая эпителизация. В этих случаях, несмотря на сравнительно глубокое поражение, при ограниченном нагноительном процессе на обожженной поверхности в течение трех-четырех недель с момента ожога самостоятельная островковая эпителизация может наступить даже на весьма больших площадях.

Главное требование, предъявляемое к лекарственным веществам местного применения при ожогах, заключается в антибактериальном действии, болеутоляющем эффекте, коагуляции омертвевших тканей и уменьшении проницаемости капилляров в ране для прекращения плазмопотери.

На протяжении 10 лет мы с различным успехом испытали для местного лечения ожогов многочисленные средства, в том числе и антибиотики. Вскоре пришлось убедиться в малой эффективности местного применения антибиотиков — даже таких, которые обладают широким спектром антибактериального действия (пенициллин, синтомицин, биомицин и др.). Клинические наблюдения показали малую эффективность местного применения антибиотиков, а бактериологические исследования почти всегда подтверждали нечувствительность раневой микрофлоры к указанным антибиотикам уже на 4—5-й день с момента ожога.

Сообщения о высокой эффективности местного применения при ожогах нового отечественного антибиотика растительного происхождения — иманина, — опубликованные в 1954 г.* Н. А. Ивановой, Н. П. Морозовой, не вызвали большого доверия практических врачей, так как некоторые их выводы были не совсем обоснованы. Так, в работе Н. А. Ивановой в стройно выведенной таблице показано значительное снижение сроков заживления всех ран, леченных иманином, по сравнению со всеми другими средствами; ожоги II степени, местно леченные иманином, заживали, по данным автора, на пятый день. Любому хирургу ясно, что такого в жизни не бывает, так как рост нового эпидермиса при отсутствии нагноительного процесса после ожога II степени не может закончиться ранее 9—12-го дня. В работе Н. П. Морозовой указывалось, что при лечении иманином ожогов III степени на восьмой-девятый день обнаруживались здоровые и сочные грануляции, которые быстро эпителизировались. Известно, что сочные грануляции в первые две недели после глубоких ожогов вырасти не могут. Используя местно иманин, автор ни разу не наблюдала после заживления ожогов «образования обезображивающих или келлоидных рубцов», которые обычно наблюдались ею при других методах лечения ожогов. Этого тоже не могло быть, так как автор не применяла оперативного лечения.

---

* Сб. «Иманин — новый растительный антибиотик», К., 1954.

Весной 1959 г. нам пришлось в одной из районных больниц Киевской области оказывать срочную хирургическую помощь тридцати одновременно обожженным. Ввиду отсутствия в этой больнице лекарственных средств и случайного наличия большого количества иманина, мы использовали его 1%-ный водно-щелочной раствор для наложения повязки после соответствующей обработки ожоговых поверхностей. На другой день мы были поражены тем, что почти у всех пострадавших повязки были сухими, наружная плазмопотеря была небольшой, независимо от степени поражения. Ввиду обширности поражения многие больные находились в тяжелом состоянии ожогового шока, но эффективные противошоковые мероприятия обеспечили выведение их из шока, и на второй-третий день 20 наиболее тяжело пострадавших больных самолетом были доставлены в клинику. Повязки оставались сухими, общее состояние больных заметно улучшалось; после отторжения образовавшейся корки вместе с марлевой повязкой (через 11—24 дня) под ней был виден новый выросший эпидермис. У 12 больных, у которых эпидермис вырос к 11—12-му дню, был ожог II степени, а у остальных восьми — поверхностный ожог III степени; обширные раневые поверхности у этих больных закрылись к исходу третьей и началу четвертой недели за счет островковой эпителизации. Поразительной была сухость повязок у всех больных, которой не удавалось с такой неизменностью достичь при использовании других средств местного лечения. С тех пор мы выписали иманин и стали применять его в клинике в виде 1%-ного водно-щелочного раствора, а затем и в виде 3%-ной мази.

За истекшее время мы в клинических условиях лечили иманиновыми повязками еще 64 больных.

Приводим краткую характеристику этих больных. Мужчин было 32, женщин 32. Основная масса больных была в молодом возрасте: до 20 лет — 12 чел., 21—40 — 35 чел., старше 40 — 17 чел.

Производственных ожогов было 27, бытовых — 37.

Ожоги пламенем были у 37 больных, кипятком — у 25 больных, паром — у двух.

По площади поражения ожоги делились так:

До 5%	поверхности	тела	— 9 чел.
6—10%	„	„	— 29 чел.
11—20%	„	„	— 14 чел.
Свыше 20%	„	„	— 12 чел.

У 24 больных были ожоги II степени; у 31 больного — II—III степени, у 9 больных — только III степени.

46 больных местно лечили только иманиновыми повязками, а у остальных больных наряду с иманином местно применялись и другие лекарственные вещества.

Методика применения иманина. Первичная обработка заключалась в обмывании кожи вокруг ожога 0,25%-ным раствором нашатырного спирта; обожженная кожа орошалась физиологическим раствором, снимались пузыри и обрывки слущившегося эпидермиса. После этого на раневую поверхность накладывали в два слоя марлевые салфетки, смоченные 1%-ным водно-щелочным раствором иманина. Сверху клали в один слой сухую марлевую салфетку, которую туго фиксировали бинтами.

При ожогах II степени через 5—6 часов повязка превращается в сухую корку, надежно изолирующую раневую поверхность от внешней среды, а следовательно, и от инфицирования. Сухая повязка всегда свидетельствует о прекращении плазмопотери, что имеет решающее значение для жизни больного при обширных ожогах. Повязка снимается только на 10—12-й день, когда она обычно сама постепенно легко отделяется от наросшего молодого эпидермиса.

При ожогах II степени с участками поверхностных ожогов III степени повязка вскоре после наложения обычно также превращается в сухую плотную корку. Однако нередко на четвертый-пятый день или ранее в отдельных участках она промокает серозно-гнойным отделяемым. Одно-, двух- или трехкратное орошение промокших участков тем же 1%-ным водно-щелочным раствором иманина обеспечивает высыхание промокающих участков. Иногда они появляются в других местах, и с ними поступают так же. В результате на месте ожога II степени к 11—14-му дню вырастает новый эпидермис, а участки поверхностных ожогов III степени местами покрываются островками эпидермиса; но чаще покрыты струпом, под которым растет грануляционная ткань. На 12—14-й день первично наложенную повязку обычно приходится снимать, после чего накладывается мазевая повязка. Одна-две смены мазевой повязки чаще всего обеспечивают полное заживление раны к 22—26-му дню.

При глубоких ожогах III степени, когда погибает вся толща кожи, некроз, как известно, может быть двух видов: коагуляционный (сухой) или коликвационный (влажный). В момент первичной обработки глубоких ожогов нередко не представляется возможным определить вид некроза, а между тем мы всегда стремимся к тому, чтобы некроз был коагуляционным. В этом отношении большую услугу оказывают повязки с 1%-ным водно-щелочным раствором иманина. Обладая выраженным дубящим свойством, раствор иманина способствует превращению некроза в коагуляционный. После трех-, четырехкратных дополнительных орошений в конце концов на поверхности глубокого ожога образуется плотная корка, которая держится в течение 6—7 дней, а при обугливании кожи — значительно дольше (до 20—25 дней).

Впоследствии корка неизменно приподнимается вследствие скопления гноя, и тогда иманиновая повязка лишается своих

преимуществ. В этих случаях на первый план выступают хирургические методы лечения, заключающиеся в некрэктомии и пластическом закрытии дефекта кожи.

Указания на то, что иманиновые повязки способствуют быстрейшему очищению раневой поверхности (А. И. Коломийченко), в наших наблюдениях не подтвердились. Напротив, у нас создалось впечатление, что, высушивая рану, иманин задерживает протеолиз, и в этом его недостаток.

Что касается иманиновой мази, которую мы применяли в 3%-ной концентрации, то в ранние периоды лечения ожогов она по эффективности уступает водно-щелочному раствору, а позднее, на 8—12-й день, когда повязка снимается, при глубоких ожогах иманиновая мазь также уступает 10%-ной стрептомициновой мази или мази Вишневского. Преимущество последних состоит в поддержании выраженного протеолиза и более быстрого очищения раневой поверхности.

Прекрасный результат дало применение раствора иманина на донорские участки после аутотрансплантации.

Методика применения в этом случае такова. После взятия дерматомом аутотрансплантата донорский участок тотчас же покрывают салфеткой (в один слой), смоченной физиологическим раствором, и сверху — одним слоем сухой салфетки. Повязка фиксируется несколькими турами бинта. Через сутки снимают бинт и верхний слой салфетки. Нижняя салфетка, приклеившаяся к ране и пропитанная кровью, в течение дня 3—4 раза орошается 1%-ным раствором иманина и не забинтовывается. Салфетка высыхает и превращается в корочку темно-коричневого цвета, плотно прилегающую к донорскому участку. Эта корочка постепенно отделяется на 16—20-й день после того, как рана закрывается эпидермисом.

Применив эту методику 47 раз, мы ни разу не наблюдали нагноения донорского участка; эпителизация последних заканчивается не позднее чем к концу третьей недели, за счет островковых разрастаний эпителия функциональных элементов кожи.

Все это побудило нас во всех случаях отдать предпочтение иманину перед другими препаратами.

По данным В. Г. Дроботько и сотрудников, иманин обладает выраженным бактериостатическим действием и, в меньшей мере, бактерицидными свойствами.

Многочисленные посевы отделяемого поверхности ожога III степени после лечения иманином ни разу не были стерильными, но посевы неизменно показывали, что иманин в значительной мере освобождает рану от гноеродной флоры и уменьшает общее количество колоний.

Хороший клинический эффект от применения раствора иманина для лечения ожогов II степени и поверхностных ожогов III степени мы долгое время не могли подтвердить исследованием на чувствительность к нему раневой микрофлоры.

Многократные исследования раневой микрофлоры из ожоговой раны на чувствительность к иманину по методике, применяемой в нашей клинике, на плотной питательной среде давали отрицательные результаты.

По совету академика В. Г. Дроботько мы начали определять чувствительность микрофлоры к иманину методом серийных разведений и обнаружили, что у всех 10 обследованных больных микрофлора высокочувствительна к этому антибиотику. Это в полной мере согласуется с клиническими наблюдениями.

Выводы

1. Ранняя хирургическая обработка ожогов II степени с последующим наложением повязок с различными лекарственными веществами, равно как и открытое лечение ожогов II степени, дают вполне удовлетворительные результаты. Сроки заживления ожогов II степени примерно одинаковые при использовании разных способов лечения.

2. Преимущество 1%-ного водно-щелочного раствора иманина перед другими средствами лечения ожогов II степени состоит в том, что он дубит омертвевшие слои кожи, сушит рану и прекращает наружную плазмопотерю, способствуя этим борьбе с шоком.

3. Особые преимущества раствор иманина имеет при местном лечении поверхностных ожогов III степени. Он способствует активной островковой эпителизации и самостоятельному закрытию раны.

4. Раствор иманина с успехом используется в первую неделю лечения ожогов III степени. Его дубящие и антибактериальные свойства выгодно используются для коагуляции некротических участков кожи и уменьшения интоксикации организма.

5. Использование иманина как в растворе, так и в виде 3%-ной мази для лечения гранулирующих ран после ожога нецелесообразно: он задерживает очищение раны и сушит грануляции, затрудняя их нормальное развитие и эпителизацию.

ПРИМЕНЕНИЕ АЭРОЗОЛЕЙ ИМАНИНА В ПЕДИАТРИИ

М. Я. ПОЛУНОВ

Клиника детских болезней и клиника болезней уха, горла и носа
Одесского медицинского института им. Н. И. Пирогова

Аэрозоли лекарственных веществ находят широкое применение в педиатрической практике. Благодаря огромной всасывающей способности слизистой оболочки дыхательных путей, лекарственные вещества помимо местного непосредственного влияния, попадая в лимфатическую систему и малый круг кровообращения, оказывают общее действие.

Дети чаще взрослых страдают заболеваниями дыхательных путей. Как известно, частые инъекции антибиотиков они не всегда хорошо переносят, но легко выносят ингаляции аэрозолей, даже часто засыпают во время процедуры. Кроме того, пероральное и парэнтеральное лечение антибиотиками заболеваний легких и верхних дыхательных путей часто не дает заметного эффекта, тогда как применение аэрозолей приводит к быстрому и стойкому выздоровлению. При этом в крови в течение длительного времени после ингаляции обнаруживаются терапевтические концентрации антибиотиков.

Аэрозоли лекарственных веществ в педиатрической практике с терапевтическим эффектом применяли Р. Л. Гамбург с сотрудниками (1950), С. Я. Аркавин (1952), Е. М. Грищенко (1957), В. Н. Семенова (1956), Ю. Ф. Домбровская (1957), Карберг и др., Сохсе и Реттгер (1957) и др.

Учитывая противовоспалительное и антибактериальное действие иманина, мы применили его в виде ингаляций 0,5—1%-ного раствора у 77 детей при острых катарах верхних дыхательных путей, мелкоочаговом воспалении легких и хроническом тонзиллите.

Под нашим наблюдением было 18 детей с острыми катарами верхних дыхательных путей, из них в возрасте до шести месяцев — 5 детей, до одного года — 4, до трех лет — 7, двое детей в возрасте 7 и 13 лет. Уже под влиянием первых ингаля-

ций 0,5%-ного раствора иманина у детей проходил насморк, исчезала гиперемия слизистой оболочки зева, улучшалось общее состояние, нормализовалась температура и проходил кашель.

У 23 детей при мелкоочаговом воспалении легких применялись ингаляции аэрозолями 0,5%-ного раствора иманина в комплексе с внутримышечными инъекциями пенициллина, стрептомицина, переливаниями крови, физиотерапевтическими процедурами и приемом витаминов. Исследовали детей: до шести месяцев — 4, от семи месяцев до одного года — 2, от одного года до трех лет — 14, от трех до пяти лет — 2 и одного ребенка в возрасте 10 лет.

У преобладающего большинства детей на протяжении первых трех суток ингаляций аэрозолей иманина и комплексного лечения наступала дезинтоксикация, ликвидировались депрессия, вялость, снижалась температура, нормализовались пульс, дыхание, проходили цианоз и бледность. Патологические изменения со стороны легких и сердца исчезали в конце первой и в течение второй недели от начала лечения. Катаральные явления носа и зева исчезали после приема первых трех ингаляций.

У 36 детей наблюдался хронический тонзиллит, причем у 25 он протекал на фоне активной фазы ревматизма.

Состояние зева до приема ингаляции характеризовалось более или менее выраженными катаральными явлениями; наблюдалась гиперемия различной интенсивности, разрыхленность небных миндалин с наличием в лакунах казеозных пробок или жидкого эксудата.

У большинства больных после приема ингаляции, на фоне антиревматической терапии, уменьшались небные миндалины, исчезали гнойные пробки, заметно уменьшались шейные лимфатические узлы, ликвидировалось растройство носового дыхания, уменьшался лейкоцитоз.

Ингаляции проводились ежедневно. Курс лечения — 10—15 дней. На одну ингаляцию расходовалось 2—3 *л* 1%-ного раствора иманина.

Побочные действия аэрозолей иманина на организм ребенка нами не установлены. Дети хорошо переносили ингаляции, и многие из них во время этой процедуры засыпали.

Таким образом, аэрозоли 0,5%-ного раствора иманина оказались эффективными при острых катарах верхних дыхательных путей у детей. Под влиянием первых процедур проходит насморк и катаральные явления со стороны верхних дыхательных путей и улучшается общее состояние.

Благоприятный лечебный эффект отмечен при применении ингаляции 0,5%-ного раствора иманина при мелкоочаговом воспалении легких, при хроническом тонзиллите у детей; ежедневные ингаляции 1%-ным раствором иманина в течение 10—15 дней приводят к уменьшению небных миндалин, исчезновению гиперемии миндалин и дужек и улучшению общего состояния.

ЛИТЕРАТУРА

Аркавин С. Я., Изучение эффективности некоторых лечебных аэрозолей, Дисс., Львов, 1952.

Грищенко Е. Н., Лечение воспаления легких у детей раннего возраста аэрозолем пенициллина, Дисс., Львов, 1955.

Гамбург Р. Л., Эйдельштейн С. П., Гельфер Р. Л., Рубцова Л. К., Применение пенициллина в мелкодисперсном состоянии, «Педиатрия», № 6, 1950.

Гамбург Р. Л., Эйдельштейн С. И., Красикова В. А., «Новости медицины», в. 5, 1952.

Домбровская Ю. Ф., Труды Всероссийской Научной конференции детских врачей по проблемам «Пневмония и антибиотики», 1959.

Семенова В. Н., «Педиатрия», № 1, 1956.

ОПЫТ МЕСТНОГО ПРИМЕНЕНИЯ ИМАНИНА У ДЕТЕЙ ПОСЛЕ ТОНЗИЛЛЭКТОМИИ

М. Е. САЛАНТ и М. Я. ПОЛУНОВ

Клиника болезней уха, горла и носа при Одесской городской больнице

Наблюдения ряда авторов (А. И. Коломийченко, Е. А. Евдощенко, Л. А. Зарицкий, М. Ф. Королев, И. И. Суслов) указывают на благоприятное действие иманина при ряде ото-рино-ларингологических заболеваний. Учитывая, что после операции тонзиллэктомии в миндаликовых нищах развивается острый воспалительный процесс с наличием обильной микрофлоры и образуется серовато-белый (фибринозный) налет, сопровождающийся неприятным запахом изо рта, повышением температуры, отечностью язычка и дужек и болью при глотании, мы решили применить ингаляцию 1%-ного раствора иманина у детей после операции тонзиллэктомии.

Под нашим наблюдением в течение 1958 г. находилось 62 ребенка в возрасте 2,5—15 лет, которым производилась операция тонзиллэктомии по поводу хронического тонзиллита с последующими ингаляциями иманина. Курс лечения иманином продолжался 3—5 дней, т. е. до момента выписки больного из клиники. На одну ингаляцию брали 2 *мл* раствора иманина.

Одновременно под нашим наблюдением было 70 дней после удаления небных миндалин без применения ингаляции иманина (контрольная группа).

Под влиянием ежедневных ингаляций 1%-ным раствором иманина значительно уменьшались реактивные явления в зеве, несколько уменшались боли в горле; наблюдалось образование тонкого буроватого налета, скорее происходила эпителизация в нищах миндалин. Не наблюдалось кровотечения, уменьшался неприятный запах изо рта. Благодаря применению ингаляции 1%-ного раствора иманина у детей сравнительно легко протекал послеоперационный период.

Наряду с клиническими наблюдениями у больных изучалась микрофлора миндалин до операции и миндаликовых ниш после

операции. Исследования производились ежедневно в течение 4—5 дней у первой группы больных — после ингаляции иманина, у контрольных — без ингаляции иманина.

Микрофлора миндалин состояла, главным образом, из стрептококков и стафилококков в асоциации с сопутствующей микрофлорой: дрожжеподобными грибками, псевдодифтерийной палочкой, кокками, грамположительными бациллярными формами.

Нами было обращено внимание главным образом на стрептококковую флору, которой приписывается этиологическое значение в воспалительном процессе в самих миндалинах и при метатонзиллярных заболеваниях.

Всего обследовано 110 больных. Из них обнаружен стрептококк у 78%, в том числе гемолитический — у 26%, негемолитический — у 52%, гемолитический стрептококк — у 8%.

Частота обнаружения гемолитического стрептококка в миндалинах — различна, по данным различных авторов. Нильсон (1949) считает, что чем длительнее период заболевания до операции, тем реже обнаруживается гемолитический стрептококк.

У трех наших больных обнаружен гемолитический стрептококк и гемолитический стафилококк.

Особой разницы в микрофлоре миндалин у больных с хроническим тонзиллитом, осложненным и неосложненным ревматизмом, мы не наблюдали, о чем есть указания и в литературе (Георги, 1949, и др.).

Значительной разницы в составе микрофлоры до операции и после тонзиллэктомии как у больных, леченных ингаляциями иманина, так и у больных контрольной группы мы не отмечали.

Отсутствие качественного изменения микрофлоры наблюдали А. И. Коломийченко и Е. А. Евдощенко при лечении больных иманином после тонзиллэкторами, Н. Т. Морозова — при лечении иманином больных с ожогами.

В мазках отделяемого из ниш миндалин после операции больных, леченных иманином, отмечалось значительно меньшее количество лейкоцитов и меньшее количество различных бактериальных форм, чем у больных контрольной группы.

Чтобы установить характер действия иманина непосредственно на микрофлору миндалин, мы провели ряд опытов для определения чувствительности выделенных культур к иманину.

Мы пользовались методом бумажных дисков. По наблюдению ряда авторов (П. Н. Кашкин, П. Н. Голяков, В. А. Цыганов, Л. Б. Хазинсон и др.) этот метод не уступает методу серийных разведений. Этот метод прост по выполнению, нагляден и удобен для сравнения. Нами было изучено 100 различных штаммов, выделенных из зева больных. Параллельно определялась чувствительность этих культур к пенициллину, биомицину, стрептомицину, левомицетину, террамицину. Мы пользовались индикаторными дисками Второго московского завода медпрепара-

тов. Для определения чувствительности исследуемых культур к иманину стерильные фильтровальные бумажки размера стандартных дисков пропитывались свежеприготовленным 1%-ным раствором иманина.

Бумажки накладывались на мясопептонный агар в чашках Петри, предварительно засеянный исследуемой культурой. Результаты учитывались после суточной инкубации при 37°.

По этому методу иманин не задерживал роста исследуемых нами культур. К другим антибиотикам — пенициллину, стрептомицину, биомицину, левомицетину и террамицину исследуемые культуры были также чувствительны в различной степени.

Отсутствие влияния иманина на задержку роста могло зависеть от того, что его раствор плохо диффундирует в питательную среду, или же от того, что антибактериальное вещество иманина адсорбируется фильтровальной бумагой. Исходя из этих соображений мы повторили наши опыты, пользуясь методом лунок, предложенным Абрагим (1946) и др. В мясопептонном агаре, засеянном культурой, вырезались лунки диаметром 1 *см*, и в эти лунки наливался иманин в растворе 1 : 100. После суточной инкубации при 37° учитывались результаты. Данные приведены в таблице.

Чувствительность бактериальных культур к различным антибиотикам

Группа микроорганизмов	Количество штамов	К левомицетину	К террамицину	К биомицину	К стрептомицину	К пенициллину	К иманину
Стрептостафилококки	60	55 / 5	53 / 7	48 / 12	44 / 16	36 / 24	15 / 45
Бациллы грамположительные	16	11 / 5	4 / 12	8 / 8	6 / 10	2 / 12	1 / 15
Бациллы грамотрицательные .	24	11 / 3	8 / 16	8 / 16	5 / 19	0 / 24	0 / 24

Примечание. В числителе — чувствительные, в знаменателе — нечувствительные штаммы.

Задержка роста под влиянием иманина при использовании этого метода отмечена у незначительного количества культур. Зона задержки роста находилась на расстоянии 1—3 *мл* от краев лунки в интенсивно окрашенной иманином части пита-

тельной среды, что свидетельствует об антибактериальном действии иманина только в больших концентрациях. Пересевы из зон задержки роста в питательную среду без иманина давали рост исходных культур. Иманин, следовательно, оказывал только бактериостатическое действие.

Мы провели также ряд опытов, пользуясь жидкой питательной средой — мясопептонным бульоном с 1% глюкозы, содержащим иманин в концентрации 1 : 200—1 : 1000. Первую серию этих опытов мы провели с 17 штаммами грамотрицательных культур: *B. dysenteriae* Flexner — 5 штаммов, *B. dysenteriae* Sonne — 5 штаммов, *B. coli* — 5 штаммов, *B. proteus* — 1 штамм, *B. pyocyaneum* — 1 штамм. Все перечисленные культуры беспрепятственно развивались и ферментировали глюкозу в этих средах с содержанием иманина 1—1000—1 : 200.

Нечувствительностью возбудителей дизентерии к иманину следует объяснить отсутствие терапевтического эффекта в наблюдениях Беловой и Сегал (1946) при лечении дизентерийных больных настоем иманина.

Из взятых в опыт 30 штаммов стафилококков и стрептококков, выделенных из тонзилл больных, только 6 штаммов не давали роста в этой среде, содержавшей иманин в разведениях 1 : 200—1 : 1000. Однако жизнеспособность культур сохранялась еще через 48 часов. Следовательно, для гибели микробных тел под влиянием иманина требуется в некоторых случаях длительное действие препарата, что следует учесть при выборе метода применения иманина (мази, присыпки, аппликации).

Терапевтический эффект от применения иманина, наблюдаемый нами в клинике при лечении больных после тонзиллэктомии, не может быть объяснен только антибактериальными свойствами препарата, а зависит, по-видимому, от непосредственного действия иманина на раневую поверхность. Известно, что лечебный эффект зависит не только от антибактериального действия применяемого вещества, а большое значение имеют и противовоспалительные свойства медикамента.

Учитывая, что уменьшение воспалительного процесса, уменьшение эмиграции лейкоцитов и образование более тонкой и более сухой фиброзной пленки в нишах после удаления миндалин при применении ингаляции иманина — это явления, зависящие от состояния сосудов, мы считали интересным проследить за действием иманина непосредственно на сосуды.

Эти наблюдения были проведены на изолированных лапках лягушек по методу Тренделенбурга. Препарат иманина брали в разведении 1 : 5000—1 : 200. Результаты наших наблюдений показывают, что иманин обладает сосудосуживающими свойствами (от 7% при применении препарата в концентрации 1: 5000, 35—45% при разведении препарата 1 : 200).

Сосудосуживающее действие иманина способствует уменьшению эмиграции лейкоцитов и образованию выпота; раневая

поверхность скорее подсыхает, на ней меньше развивается микрофлора, отягощающая процесс заживления.

В этом отношении немаловажное значение имеет и образование сгустков крови на раневой поверхности, которые служат питательной средой для развития различной нежелательной микрофлоры. Исходя из этих соображений, мы проследили влияние иманина на свертываемость крови in vitro по методу Бюркера.

По нашим наблюдениям, иманин в концентрации 1 : 100 и 1 : 200 удлиняет время свертывания крови на 2—2,5 минуты, а в концентрации 1 : 500 влияния на скорость свертывания крови не оказывает.

При замедленном свертывании крови реже образуются сгустки ее, раневая поверхность быстрее очищается, меньше развивается различная микрофлора, скорее наступает эпителизация.

На основании наших наблюдений и литературных данных можно сделать следующие выводы:

1. Применение иманина после тонзиллэктомии дает выраженный терапевтический эффект.

2. Иманин обладает сосудосуживающим свойством, чем объясняется его противовоспалительное действие.

3. Иманин удлиняет время свертывания крови.

4. Антибактериальные качества иманина уступают в этом отношении антибиотикам широкого спектра действия (пенициллину, стрептомицину, биомицину, левомицетину и террамицину).

Исходя из последнего, в некоторых случаях целесообразно применять иманин в комбинации с другими антибиотиками.

ПРИМЕНЕНИЕ АЭРОЗОЛЕЙ ИМАНИНА ПРИ ВОСПАЛЕНИИ ПРИДАТОЧНЫХ ПАЗУХ НОСА У ДЕТЕЙ В АКТИВНОЙ ФАЗЕ РЕВМАТИЗМА

М. Я. ПОЛУНОВ

Клиника болезней уха, горла и носа и клиника детских болезней Одесского медицинского института

Заболевания придаточных пазух носа в детском возрасте, как это показывают клинические наблюдения, часто поддерживают катаральные явления в полости носа и, наоборот, чем интенсивнее воспалительный процесс слизистой оболочки носа, тем чаще наблюдается затемнение придаточных пазух и на рентгенограмме.

В основу настоящей работы положены данные клинического обследования 112 детей, страдающих ревматизмом в активной фазе.

При рентгенологическом исследовании затемнения придаточных пазух носа отмечены у 57 детей следующих возрастных групп:

3—4 года	1
5—6 лет	5
7—8 „	6
9—10 „	14
11—13 „	20
14—16 „	11
Всего	57

Двустороннее затемнение верхнечелюстных пазух наблюдалось у 6-ти детей, одностороннее — у 7 детей, краевое затемнение — у 44 детей.

При объективном исследовании почти у всех детей наблюдалась гиперемия слизистой оболочки полости носа, набухлость нижних раковин и слизисто-гнойное отделяемое в нижних носовых ходах. Одновременно отмечалось затруднение носового дыхания. У 5 детей были ранее произведены операции — тонзиллэктомия и аденотомия.

Лечение заболеваний придаточных пазух носа у детей в большинстве случаев консервативное (Н. В. Зак, Д. М. Рутенбург, Ю. А. Девельтова, Д. П. Суркин, Мак-Магол, Макбет и др.).

При лечении полости носа и его придаточных пазух первоочередной задачей мы считали восстановление у детей носового дыхания.

Как показали записи носового дыхания, степень проходимости носа после приема аэрозолей 1%-ного раствора иманина повышалась.

Нами в другой работе (М. Е. Салант и М. Я. Полунов) показано, что иманин обладает сосудосуживающим свойством. Этим объясняется улучшение аэрации и дренирования придаточных пазух носа после приема аэрозолей иманина.

Лечение заболеваний придаточных пазух носа у детей, страдающих активной фазой ревматизма, заключалось в назначении ингаляции 1%-ного раствора иманина в нос ежедневно. Курс лечения — 10—15 дней. Длительность процедуры 10—15 мин. В результате приема аэрозолей иманина в нос исчезала гиперемия и набухлость слизистой оболочки носа, улучшалось носовое дыхание, носовая полость очищалась от чрезмерных слизисто-гнойных выделений. Улучшалось общее состояние детей.

Приводим для примера краткую выписку из истории болезни.

Павел К., 12 лет (история болезни 3717). Диагноз — ревматизм II, активная фаза, сердечная форма, эндомиокардит, острое течение. Данные риноскопии: слизистая носа отечная, гиперемирована, в полости носа масса гнойных выделений. Аденоидов нет (в 1958 г. была произведена операция тонзиллотомии и аденотомии). На рентгенограмме от 21. X 1959 г. отмечается интенсивное затемнение правой лобной пазухи и правой гайморовой пазухи (рис. 1).

Анализ крови от 20. X 1959 г. Нв. — 67%, Эр. — 4630000, РОЭ — 8, 4, 6 *мм*

Пробы	Эозинофилы	Нейтрофилы		Лимфоциты	Моноциты	Всего лейкоцитов
		Палочкоядерные	Сегментированные			
Тепловая	7	9	56	26	2	14800
	7	0	56	26	2	14800
	7	9	56	24	4	8000
Холодовая	6	8	53	31	2	12200
	6	8	56	25	5	12200

22. X назначены 10 дней ингаляции 1%-ным иманином. Осмотр 30.X и 25.XI: слизистая носа бледная, носовая полость очистилась от гнойного отделяемого, ухудшилось носовое дыхание. На рентгенограмме от 27. XI отмечается выраженная пневматизация правой лобной и гайморовой пазух (рис. 2).

Рис. 2.

Рис. 1.

Анализ крови от 2. XI 1959 г. Нв. — 64%, Эр. — 4220000, РОЭ — 1, 2, 2, 9 мм

Пробы	Эозинофилы	Нейтрофилы		Лимфоциты	Моноциты	Всего лейкоцитов
		Палочкоядерные	Сегментированные			
Тепловая	5	2	46	40	6	6600
	5	2	46	40	6	6600
	5	2	44	48	1	8800
Холодовая	5	2	56	32	5	6000
	3	7	60	35	5	8000

Таким образом, тепловая и холодовая пробы были при первичном исследовании извращены, при повторном исследовании — тепловая проба стала положительной (число лейкоцитов увеличилось на 33%), холодовая — осталась извращенной.

Наши наблюдения приводят к следующим выводам:

1. Аэрозоли 1%-ного раствора иманина оказывают терапевтический эффект при воспалительных заболеваниях придаточных пазух носа у детей, страдающих активной фазой ревматизма.

2. Благодаря сосудосуживающему действию иманина на слизистую оболочку носа и стимуляции функции мерцательного эпителия создаются лучшие условия для аэрации и дренирования придаточных пазух носа.

Под влиянием аэрозолей иманина слизистая носа становится бледно-розовой, проходят явления отечности и воспаления, улучшается носовое дыхание. Ингаляции необходимо производить ежедневно. Курс лечения 10—20 дней.

ОПЫТ ЛЕЧЕНИЯ АЭРОЗОЛЯМИ ИМАНИНА ПРОФЕССИОНАЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ВЕРХНИХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ НА ДЖУТОВОЙ ФАБРИКЕ

М. Я. ПОЛУНОВ и Н. А. ШТАРК

Клиника болезней уха, горла, носа Одесского медицинского института и здравпункт Одесской джутовой фабрики

Как известно, у рабочих прядильно-ткацких хлопчатобумажных и ватных фабрик отмечаются субатрофические и атрофические катары верхних дыхательных путей.

Вопрос о влиянии пыли в джутовом производстве в литературе почти не освещен.

Путем систематических осмотров нами было обследовано 600 рабочих из таких фабрик и установлено, что чаще всего поражения встречаются в подготовительных цехах.

Для определения влияния джутовой пыли на слизистую верхних дыхательных путей был произведен такой эксперимент.

Джутовая пыль была нанесена на слизистую оболочку лягушки. При этом наблюдалось резкое угнетение двигательной функции мерцательного эпителия; восстановление функции отмечалось только к девятой минуте. При последующем нанесении 1%-ного щелочного раствора иманина восстановление функции эпителия наблюдалось уже к исходу первой минуты. Отсюда сделан вывод о восстанавливающем действии иманина.

Учитывая, что иманин обладает антибактериальным и противовоспалительным действием, мы провели наблюдения над больными, страдающими катаром верхних дыхательных путей, которых лечили 1%-ным щелочным раствором иманина. Под наблюдением находилось 163 человека, из них с гипертрофическими процессами в носу, носоглотке и глотке — 19 человек, с субатрофическими катарами — 57 человек, атрофическими катарами — 49 и с простыми катарами (гиперемия слизистой инъекция сосудов) — 38 человек. Методика лечения заключалась в ежедневных ингаляциях 1%-ным раствором иманина. Длительность лечения — 10—15 сеансов по 7 минут до или после работы (в зависимости от смены).

В оценке результатов лечения аэрозолями иманина мы употребляем термины: «улучшение», «без результатов», «ухудшение».

Ниже приводим таблицу наблюдавшихся результатов.

Результаты лечения больных аэрозолями иманина

Характер воспаления	Количество	Улучшение	Без результатов	Ухудшение
Гипертрофическое . . .	19	17	2	—
Субатрофическое . . .	57	51	4	2
Атрофическое	49	48	1	—
Простое	38	36	1	1
Всего	163	152	8	3

При повторных осмотрах у большинства больных обнаруживалось увлажнение слизистой оболочки носа, глотки и гортани: слизистая становилась бледно-розовой, очищалась от корок и вязкой слизи, рассасывались гранулы, уменьшалась инъекция сосудов, исчезали боли по ходу дыхательных путей, улучшалось носовое дыхание и общее самочувствие.

Приводим краткие выписки из некоторых историй болезней.

1. Больной Д., 54 года. Работает на фабрике 25 лет. Должность — помощник мастера. Жалобы на сухость в носу, глотке, саднение в горле. При осмотре 3. II—1960 г.: уши в норме. Слизистая носа суховата, гиперемирована, покрыта пылью. Слизистая задней стенки глотки сухая, рыхлая, местами гиперемирована, имеется густая сеть инъецированных сосудов. Гортань в норме.

Принял 10 сеансов аэрозолями 1%-ного раствора иманина.

15. II — 1960 г. отмечается улучшение, «стало меньше сохнуть в носоглотке и глотке». При осмотре: слизистая носа умеренно гиперемирована, увлажнена. Задняя стенка глотки бледно-розовая, влажная.

2. Больная Д., 46 лет, мяльщица. Работает на фабрике 6 лет. Жалобы: сухость в носу, глотке. При осмотре 5. II — 1960 г.: нос — слизистая суховата, ярко-красная, много пыли. На задней стенке глотки слизистая ярко-красная, сухая, покрыта густым желтым секретом. Гортань — истинные связки суховаты, розовые. Приняла 8 сеансов ингаляций аэрозолями 1%-ного раствора иманина.

22. II—1960 г.: жалоб нет. Слизистая носа бледно-розовая, влажная. Слизистая глотки — розовая, влажная, инъекция сосудов незначительна. Гортань в норме.

Выводы

1. Джутовая пыль вызывает угнетение двигательной функции мерцательного эпителия.

2. 1%-ный раствор иманина оказывает стимулирующее действие на двигательную функцию мерцательного эпителия и положительный терапевтический эффект при профзаболеваниях верхних дыхательных путей на джутовом производстве.

ЛЕЧЕНИЕ ОСТРОЙ ГНОЙНОЙ ХИРУРГИЧЕСКОЙ ИНФЕКЦИИ И ОЖОГОВ РАСТИТЕЛЬНЫМ АНТИБИОТИКОМ ИМАНИНОМ

Г. В. СУСЛОВ

Поликлиника № 1 Министерства здравоохранения УССР и клиника госпитальной хирургии Киевского медицинского института

Среди новых антибиотиков растительного происхождения иманин заслуживает большого внимания как новое и эффективное антибактериальное средство при лечении острой гнойной хирургической инфекции и ожогов.

Согласно литературным данным и нашим наблюдениям в клинике госпитальной хирургии Киевского мединститута и в поликлинике № 1 Министерства здравоохранения УССР иманин оказывает хороший целебный эффект при различных наружных нагноениях и более глубоких гнойных процессах.

Повседневная хирургическая практика показывает, что не всегда оперативное вмешательство может обеспечить удовлетворительные условия оттока раневого содержимого. С тех пор как нами стал применяться иманин при лечении вскрытых очагов нагноения в глубоких слоях тканей мы не видели гнойных затеков и рецидива воспалительного процесса.

Замечательное свойство иманина способствовать быстрому очищению раны от гноя, отторжению некротических частей и образованию свежих грануляций является особенно ценным при лечении глубоких воспалительных очагов. Выполнение очага из глубины грануляционной тканью ведет к тому, что очаг очень скоро заживает без наклонности к рецидиву.

Помимо дегидратационного действия на раневой процесс, иманин обладает еще чрезвычайно важным фактором повышать и стимулировать процесс регенерации, от чего эпителизация осуществляется в более короткие сроки.

Особенно следует отметить хорошую эпителизацию поверхностей после обширных ожогов II—III степени. Быстрой и хо-

рошей эпителизацией объясняется то, что при лечении ожогов иманином не остается обезображивающих рубцов. В этом отношении терапия ожогов иманином превосходит другие способы лечения. Мы использовали иманин для лечения больных с острой гнойной хирургической инфекцией и ожогами в поликлинике № 1. Иманин применялся нами в виде 1—2%-ного водно-щелочного раствора путем орошения, влажных повязок, тампонов и примочек и 5%-ной иманиновой мази. В таких концентрациях иманин является прекрасным средством, которое при лечении омертвевшего участка и распада тканей резко изменяет физико-химическое состояние ран, уменьшает напряженность ткани, усиливает отток из раны в повязку, очищает рану от распадающейся ткани и сгустков крови; резко уменьшается количество бактерий. 1—2%-ный иманин мы применяли только в первой фазе раневого процесса, а затем переходили к лечению менее концентрированными растворами или к наложению асептических повязок с 5%-ной иманиновой мазью. При развившихся грануляциях применение 1—2%-ного раствора иманина противопоказано, так как при такой его концентрации происходит высушивание грануляций и сморщивание их, могут быть небольшие кровотечения.

При определении лечебной эффективности иманина учитывались в динамике характер течения процесса, состояние грануляций, наличие или отсутствие гнойных или фибринозных налетов, изъязвлений, кровоизлияний, характер дна раны, характер раневого отделяемого, количество его, сроки заживления, картина крови и изменения в моче. Отделяемое из раны подвергалось цитологическому и бактериологическому исследованиям. В настоящеее время наши наблюдения охватывают 102 больных со следующими видами заболеваний:

	Количество больных
Ожоги	28
Инфицированные раны . . .	16
Абсцессы	12
Панариции подкожные . .	5
Паронихии	8
Фурункулы	10
Карбункулы	4
Гнойные маститы	6
Гидрадениты	5
Трещины слизистой анального отдела прямой кишки . . .	8
Итого	102

Цитологические и бактериологические исследования отделяемого из раны производились до и после лечения. Данные цитологических исследований раневого эксудата показали влияние

иманина на повышение пластических и защитных свойств тканей: происходило явное увеличение количества полибластов, макрофагов, появление фибробластов и клеток эпителия.

Полученные данные явно свидетельствуют о благоприятном воздействии иманина на течение регенеративного процесса в тканях.

Для сравнительной оценки терапевтической эффективности иманина нами было взято приблизительно такое же количество больных с аналогичными заболеваниями, но леченных другими средствами (мазь Вишневского, стрептоцидовая мазь, сульфидиновая, фурациллиновая, пенициллиновая мази, микроцид, грамицидин, гипертонический раствор поваренной соли и т. д.).

При сравнении средних сроков выздоровления при иманинотерапии с такими же сроками при других способах лечения было отмечено сокращение их, что подтверждается данными таблицы.

Сроки лечения различных заболеваний иманином и другими методами

Заболевания	Средний срок лечения (в днях)	
	иманином	другими методами
Ожоги II степени . . .	6	9
Инфицированные раны	5,8	8,2
Фурункулы	4	6
Абсцессы	4,5	6
Гнойные маститы . . .	12	17
Подкожные панариции .	7	9,5
Паронихии	4	6,5

Инфицированные раны

Вопрос о лечении инфицированных ран не теряет своей остроты. К настоящему времени широкое применение для лечения ран нашли пенициллин, фурациллин, грамицидин, микроцид и другие антибиотики. Многочисленные исследования и наблюдения показали, что воздействие их на раны ограничено специфичностью действия на различные микробы, иманин же обладает и другими свойствами.

Иманин был применен нами для лечения 16 больных с инфицированными ранами, в основном бытового происхождения, часть их была производственного характера и послеоперационные.

Иманин применялся в виде 1—2%-ного водно-щелочного раствора, в виде влажных мазевых повязок или тампонов. Стерильная марля в 3—4 слоя, сильно смоченная раствором има-

нина, рыхло укладывалась на рану и покрывалась сверху тонким слоем ваты. Такая повязка за сутки подсыхает на поверхности раны и требует замены. Ежедневная смена повязок невыгодно отражается на процессе заживления раны: успевшие за сутки образоваться с краев раны нежные наслоения эпирдемиса при смене повязки вновь отторгаются и гибнут, процесс заживления затягивается. Поэтому мы при перевязках первый слой марли оставляли на ране, орошая его раствором иманина, сверху накладывали повязку с 5%-ной иманиновой мазью. При двойном пропитывании повязки марля не просыхала и не приклеивалась к краям раны. При развившихся грануляциях мы переходили на асептические повязки с 5%-ной иманиновой мазью. Во всех 16 случаях наблюдалось быстрое очищение ран от некротических тканей, гноя, появление розовых грануляций и быстрая эпителизация.

Для иллюстрации приводим краткую выдержку из истории болезни:

Больной П. оперирован 18. X — 1958 г. по поводу правосторонней ущемленной пахово-мошоночной грыжи. Послеоперационный период осложнился нагноением и расхождением швов. 10. XI — больной по его настойчивой просьбе был выписан из больницы и обратился в поликлинику. При осмотре правой паховой области определялась рана размерами 6 × 3 *см*, раневая полость глубиной до 1,5 *см*, грануляции вялые, бледные, края раны уплотнены с наличием краевого некроза кожи и подкожной клетчатки. Отмечено обильное гнойное отделяемое. С 10. XI по 22. XI вначале ежедневно, а затем через каждые 2—3 дня накладывались влажные повязки с 1—2%-ным раствором иманина. Рана очень быстро очистилась от гнойного отделяемого и некротических тканей, заполнилась грануляционной тканью, и наступило заживление. У данного больного иманин способствовал быстрому и гладкому заживлению раны, в то время как ряд других лечебных мероприятий в течение 23 дней нахождения больного в больнице не дал положительных результатов.

Карбункулы и фурункулы

Раннее лечение карбункулов и фурункулов (до выявления гнойного расплавления ткани) делает излишним оперативное вмешательство. Наилучшим способом лечения в этот период является введение в окружность гнойного очага 200—300 тыс. ед. пенициллина на 10—20 *мл* 0,5%-ного новокаина (новокаиновая блокада), аутогемотерапия с пенициллином в комплексе с физиотерапевтическими мероприятиями.

Применение иманина в начальной стадии, при остром воспалительном процессе с наличием плотного инфильтрата без гнойных пробок, нецелесообразно. Больных с фурункулами лечилось у нас в поликлинике 14 человек. Это были больные, у которых наблюдалось нарушение целости эпидермального слоя и имелись уже некротические пробки в клетчатке. Для их лечения применялись повязки с 1—2%-ным раствором иманина в первой стадии воспалительного процесса и повязки с 5%-ной иманиновой

мазью при появлении грануляций. Заживление происходило в сроки, значительно меньшие по сравнению с лечением другими методами.

Гидрадениты

Лечение гидраденитов в начальной стадии заключается в новокаиновой блокаде с пенициллином, аутогемотерапии с пенициллином, повязке и физиотерапевтическом лечении. Лечение иманином производилось в стадии абсцедирования после оперативного вмешательства в виде повязки с 1—2%-ным раствором иманина, которая накладывалась на одни сутки, а затем переходили на асептическую повязку с 5%-ной иманиновой мазью. Наши наблюдения показали, что иманин во всех случаях давал хороший лечебный эффект и притом в более короткие сроки, чем при лечении другими средствами. При лечении иманином мы ни в одном случае не наблюдали затяжного рецидивирующего характера воспалительного процесса.

Привожу краткую выдержку из истории болезни.

Больная обратилась к нам 22 апреля 1959 г. по поводу гидраденита левой подмышечной области в стадии абсцедирования, с резко выраженными воспалительными явлениями. После соответствующего туалета произведен разрез. При этом выделилось значительное количество гноя. Наложена влажная повязка с 2%-ным раствором иманина. На второй день при смене повязки отделяемого почти не было, воспалительные явления резко уменьшились. Снова наложена влажная повязка с 2%-ным раствором. Через четыре дня воспалительные явления стихли и наступило заживление.

Абсцессы и маститы

При гнойном воспалении подкожной жировой клетчатки и при гнойном воспалении грудных желез, так же как и при гидраденитах, местное применение иманина эффективно только после оперативного вмешательства. В таких случаях водно-щелочной раствор иманина применялся для орошения глубоких ран с дренированием их тампонами, смоченными в растворе иманина. Иманин, быстро отторгая некротические ткани, угнетая рост флоры, способствует ускорению заживления.

Для иллюстрации приводим краткие данные из истории болезни.

Больная 34 лет обратилась в хирургический кабинет поликлиники 7 мая 1959 г. по поводу левостороннего гнойного мастита. Сразу же была произведена операция: из гнойной полости выделилось значительное количество гнойного содержимого. В гнойную полость рыхло введен тампон с 2%-ным раствором иманина и наложена влажная повязка с тем же раствором. Через день после операции произведена перевязка, тампон совершенно свободно отошел вместе с тканевым некрозом, количество гнойного отделяемого резко уменьшилось. В гнойную полость введена резиновая полоска для оттока отделяемого, наложена повязка с 2%-ным раствором иманина. Последующие перевязки производились через 2 дня. 13 мая, т. е.

на седьмой день, гнойная полость совершенно очистилась от гнойного содержимого, инфильтрация тканей резко уменьшилась, а через 10 дней от начала заболевания наступила полная эпителизация раны.

Панариции и паронихии

При панарициях и паронихиях водно-щелочной раствор иманина целесообразно применять только после радикального оперативного вмешательства. Влажные повязки с 1—2%-ным раствором иманина очищали рану от тканевого некроза и процесс заживления шел гладко, в более короткие сроки.

Больная П., 23 года, обратилась в поликлинику 18 апреля 1959 г. по поводу подкожного панариция первого пальца правой кисти. Сразу же ей была произведена операция, наложена повязка с 2%-ным раствором иманина, перевязки в первые дни производились ежедневно. Рана очень быстро очистилась от некротических тканей, появились свежие грануляции. В последующие дни производились перевязки с 5%-ной иманиновой мазью. Заживление наступило в течение 6 дней, что значительно меньше по сравнению со сроками лечения другими методами.

Трещины слизистой анального отдела прямой кишки

Интересные данные получены при лечении трещин слизистой анального отдела прямой кишки. Известно, что такие трещины трудно поддаются консервативному лечению, больные часто лечатся оперативным путем. Полученные нами данные показали, что применение иманина в виде тампонов с 5%-ной мазью быстро снимало боль и в течение 10—15 дней способствовало полному заживлению трещин заднего прохода.

Ожоги

Особенно хорошие результаты получены при лечении ожогов II—III степени. После туалета обожженной поверхности спиртом пузыри вскрывались, отслоившийся эпидермис удалялся, накладывалась асептическая повязка, состоящая из нескольких слоев марли, смоченной в 1—2%-ном растворе иманина. Перевязки в первые 3—4 дня производились ежедневно, причем первый слой марли оставался на обожженной поверхности, орошался раствором иманина, а поверх накладывалось несколько слоев марли, пропитанных раствором иманина. В последующие дни при появлении грануляций и эпителизации мы переходили на повязки с 5%-ной иманиновой мазью. Течение ожогов проходит без ликвореи, вся обожженная поверхность покрывается сухой коричневой корочкой, под которой наступает эпителизация без образования обезображивающих рубцов.

Преимущество иманина перед другими методами лечения ожогов состоит в том, что в процессе лечения отсутствует лик-

ворея, устраняются боли, и заживление наступает в более короткие сроки без образования грубых рубцов.

Для иллюстрации приводим несколько примеров.

Больной Ш., 19 лет, обратился к нам 12. II 1959 г. с инфицированным ожогом II—III степени. 11 февраля во время работы получил ожог кипящей смолой всей тыльной поверхности левой кисти и тыльной поверхности правой кисти; лечение производилось по вышеуказанной методике. Заживление наступило на 12-й день.

Больной Д., 32 года, обратился в поликлинику 19. II 1959 г. с инфицированным ожогом II степени левого плеча и предплечья, правого предплечья. Два дня назад на работе получил ожог кипящей смолой. Лечение производилось по приведенной методике. Эпителизация наступила на шестой день.

Больной А., 35 лет, обратился в поликлинику 3 мая 1959 г. с инфицированным ожогом II—III-й степени левой кисти и левого предплечья. 30 апреля получил ожог загоревшимся газом. Лечение производилось по вышеупомянутой методике. Эпителизация наступила на девятый день после обращения.

Заключение

Приведенные результаты лечения показывают, что антибиотический препарат иманин представляет собой эффективное наружное средство, ускоряющее ликвидацию нагноения и заживление раны; наши наблюдения показывают, что применение 1—2%-ного водно-щелочного раствора иманина с последующим переходом на 5%-ную иманиновую мазь способствует быстрому отторжению некротических тканей, подсушиванию их и появлению свежих грануляций. Появление свежих грануляций и последующая быстрая эпителизация раневых поверхностей показывает, что иманин стимулирует размножение клеток.

Способность иманина подсушивать мокнущие поверхности и ускорять регенерацию ткани оказалась в наших случаях особенно эффективной при лечении ожогов.

ПРИМЕНЕНИЕ ИМАНИНА ПРИ ГАЗОВОЙ ИНФЕКЦИИ

Н. А. ИВАНОВА

Из клиники госпитальной хирургии Киевского медицинского института

Каждый случай эффективного лечения газовой инфекции каким-либо новым веществом заслуживает особого внимания. Поэтому в настоящем сообщении мы приводим данные, полученные при лечении газовой флегмоны иманином. Сложность патогенетических моментов при газовой инфекции, несомненно, требует и комплексного метода лечения, элементами которого являются, в первую очередь, хирургические мероприятия, затем серотерапия и неспецифическое лечение. Не касаясь подробно патогенеза газовой инфекции, отметим, что токсинемия обуславливается тремя основными факторами: 1) действием специфических токсинов возбудителей газовой инфекции, 2) действием неспецифических токсических веществ и 3) действием продуктов тканевого распада.

Если первый токсический компонент может быть устранен и снят специфическими сыворотками, то тканевой распад может быть устранен только механическим путем — хирургическими мероприятиями.

В качестве неспецифической терапии при газовой инфекции, наряду с хирургическими методами и серотерапией, широко применяются различные химические средства; цель их применения — воздействовать на аэробную флору и тем самым разорвать микробную ассоциацию, которая очень часто определяет тяжесть газовой инфекции (А. Л. Казанский, Т. П. Ковтунович, Л. А. Черная и др.).

Было предложено много средств для лечения и различные методы применения антисептических веществ (в виде тампонов, постоянного орошения, опрыскивания и т. д.). Однако ни одно из средств и ни один из методов не получил общего признания хирургов.

Из старых средств в Великую Отечественную войну применялась перекись водорода и марганцевокислый калий как сильные окислители и нежные средства для механического очищения

ран; применялись также хлоросодержащие препараты (хлорамины, азохлорамин, хлорацид, неопантоцид и др.), риванол, ихтиол, борная кислота, йод, йодоформ, мазь Вишневского и различные сульфамидные препараты. Последние давали наилучший лечебный результат.

А. Л. Казанский, Г. Т. Власов, П. Сахаров, Ф. Черткова и др. хороший эффект от применения сульфаниламидов объясняют действием их не только на аэробные микробы, но и непосредственно на анаэробы. В последний год войны в Советской армии при газовой инфекции применяли пенициллин. По данным отечественных и зарубежных авторов, эффективность этого антибиотика несомненна.

Новый растительный антибиотик иманин оказывает основное бактериостатическое действие, главным образом, на грамположительную аэробную микрофлору. Однако сотрудником анаэробного отдела Института микробиологии АН УССР В. В. Липшиц было изучено бактерицидное действие иманина и на анаэробов. Выявлено, что иманин оказывает бактерицидное действие в разведении 1 : 2500 и 1 : 5000 (в зависимости от штамма).

Украинским институтом эпидемиологии и микробиологии установлено, что бактерицидное действие иманина на столбнячную палочку проявляется при разведении 1 : 33 000. Эти данные указывают на целесообразность применения иманина при газовой инфекции. Известно, что иманин, являясь прекрасным бактериостатическим веществом, обладает еще чрезвычайно ценным дегидратационным свойством. Иманин быстро освобождает рану от раневого эксудата, ускоряет процесс отторжения некротических тканей и в дальнейшем способствует ускорению эпителизации. Эти несомненно положительные свойства иманина являются прямым показанием к широкому его использованию не только для лечения инфицированных ран и ожогов, но также при анаэробной, гнилостной и путридной инфекциях. Поэтому мы считаем, что после хирургического вмешательства при газовой инфекции полезно обильно промыть всю раневую поверхность 1%-ным водным раствором иманина.

Для иллюстрации приводим краткую выдержку из истории болезни № 24717.

Больной Е., 66 лет, 11. XII 1957 г. в 17.00 доставлен в порядке скорой помощи в инфекционное отделение Октябрьской больницы с диагнозом: рожистое воспаление мошонки. Однако необычно быстро распространяющийся отек с мошонки кверху на переднюю брюшную стенку, с наличием газа в подкожной клетчатке, появление цианотично-бурой и пятнистой окраски кожи промежности и мошонки заставили заподозрить газовую инфекцию. Больной был переведен в госпитальную хирургическую клинику примерно через 4 часа с момента поступления в инфекционное отделение.

При поступлении в хирургическую клинику состояние больного было крайне тяжелым. Жалобы на нестерпимые распирающие боли в мошонке и животе, общую слабость и головную боль.

Больной несколько возбужден, находится в состоянии эйфории. Температура 39,6. Пульс 120 в мин., малый. Кожные покровы серо-желтушной окраски. Видимые слизистые бледные. Сердце — тоны глухие, границы несколько расширены вправо. Артериальное давление — 115/65 *мм* рт. ст.

В легких — жестоковатое дыхание и рассеянные сухие и редкие влажные хрипы.

Место заболевания: мошонка значительно увеличена в размерах, резко выраженная отечность, которая распространяется кверху по передней брюшной стенке почти до реберной дуги. Цвет кожи на животе бледный; на мошонке и промежности кожа серо-буроцианотичная, пятнистая. В области дна мошонки имеется гангренозный участок размером 5 × 6 *см*. При пальпации подкожной клетчатки начиная от промежности до реберной дуги ясно ощущается крепитация, указывающая на наличие газа.

Таким образом, клиническая картина полностью соответствует газовой флегмоне промежности, мошонки и передней брюшной стенки.

Больной немедленно изолирован в отдельную палату, и там же под местной новокаиновой анестезией в комплексе с пенициллином и стрептомицином произведены множественные (8 разрезов) кожнофасциальные разрезы. На брюшной стенке при этом вышло большое количество газа. Ткани сухие, мышцы серые. На мошонке и промежности при рассечении мягких тканей выделилось значительное количество газа с ихорозным кровянистым отделяемым неприятного запаха. Некротические участки на дне мошонки были иссечены. Вся раневая поверхность обильно орошена 1%-ным водным раствором иманина, и наложена влажная повязка с таким же раствором.

В дальнейшем все перевязки производились ежедневно с обильным орошением раствором иманина и влажными повязками. Через $2^1/_2$ недели раны на мошонке и промежности полностью очистились от некротических тканей и покрылись розовыми грануляциями, а на брюшной стенке раны заэпителизировались.

Однако после отторжения некротических тканей на мошонке получился большой дефект, и элементы семенных канатиков с обоими яичками остались обнаженными и вызывали резкие боли. Это обстоятельство заставило нас через 18 дней от начала заболевания прибегнуть к наложению вторичных швов на оставшиеся кожные лоскуты мошонки. Перед операцией рана была хорошо орошена 1%-ным водным раствором иманина, после чего наложены редкие узловатые швы, соединяющие два боковых кожных лоскутка мошонки. После операции течение и заживление было гладким.

Вторым элементом комплексной терапии была серотерапия. Антигангреновая сыворотка вводилась по методу Н. Е. Дудко под эфирным наркозом внутривенно, медленно по 4000—50000 АЕ.

Помимо этого, борясь с токсемией, вводили большие количества физиологического раствора и 5%-ной глюкозы в комплексе со спиртом, витамином B_1, бромом и промедолом. Эта

комплексная жидкость, введенная внутривенно капельным методом, создавала условия охранительного торможения. Больной находился в дремотном состоянии, отсутствовало резкое возбуждение и устранялись боли.

Трансфузия крови и кровезаменителей производились не реже одного-двух раз в неделю.

Антибиотики (пенициллин и стрептомицин) вводились массивными дозами. Кислород и различные сердечные средства применялись систематически. В течение 10—12 дней состояние больного было очень тяжелым, и, действительно, происходила борьба между жизнью и смертью. У больного, помимо тяжелой газовой инфекции, наблюдалась еще двусторонняя пневмония.

Со стороны морфологического состава крови отмечался сдвиг белой крови влево и отсутствие эозинофилов. При этом повышенного лейкоцитоза не отмечалось (8000—8500), РОЭ на протяжении всего заболевания было резко ускорено (60—65 *мм* в час).

При бактериологическом исследовании раневого содержимого была обнаружена микробная ассоциация *Bac. sporogenes*, стафилококк, стрептококк и кишечная палочка. Согласно литературным данным, *Bac. sporogenes* обладает сильными протеолитическими свойствами. Материалы, полученные во время Великой Отечественной войны, показали, что эта бацилла играет значительную роль при газовой инфекции (Львов, Сахаров, Гращенко, Нечаевский, Черная и др.). Выделение ее из раневого отделяемого доходило до 45% обследованных случаев.

Ковтунович и Черная считают *Bac. sporogenes* активным участником процесса при газовой инфекции, а не сопутствующим сапрофитом. Надо полагать, что и у нашего больного в образовании газовой флегмоны спорогенная палочка в симбиозе с другими микробами сыграла большую роль.

Не останавливаясь подробно на методах и анализе общего лечения у данного больного, следует лишь обратить внимание на благоприятное влияние иманина на течение местного раневого процесса. Известно, что рана после газовой, гнилостной и путридной инфекции заживает очень долго. У наблюдаемого же больного, несмотря на обширный некроз ткани, через 18 дней от начала заболевания мы уже имели возможность наложить вторичные швы с последующим благоприятным исходом.

Это обстоятельство позволяет рекомендовать применение иманина для местного лечения газовой инфекции.

ПРИМЕНЕНИЕ ИМАНИНА ПРИ ОЖОГАХ ГЛАЗ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ И КЛИНИКЕ

(Предварительное сообщение)

В. С. ГОРЯИНОВ

Клиника глазных болезней Рязанского медицинского института им. акад. И. П. Павлова

Вопрос о лечении ожогов глаз и о профилактике их осложнений (симблефаронами, анкилоблефаронами, кератомаляциями) является весьма актуальным в клинической медицине как для здравоохранения мирного времени, так и для военной медицины.

Преследуя цель изыскания новых антибиотиков в терапии глазных болезней, мы решили испытать действие иманина на ожоговый процесс сначала в эксперименте, а затем в клинике при лечении ожогов.

С этой целью было поставлено несколько серий исследований.

В первой серии изучалось сравнительное лечебное действие некоторых препаратов на кроликах, глаза которых были обожжены гашеной известью. Лечению подвергалось всего 18 глаз с ожогами I, II и III степени.

Из них на 5 глазах применяли лечение 30%-ным альбуцидом, на 5 глазах — также 30%-ным раствором альбуцида с 1%-ным раствором аскорбиновой кислоты и на 8 глазах — 1%-ным иманином с 1% аскорбиновой кислоты.

Препараты закапывались в конъюнктивальный мешок каждые 3—4 часа.

При ожогах I и II степени результаты лечения во всех случаях были положительными и почти совпадали: следов ожогов не оставалось вовсе (чаще это наблюдалось в случаях, леченных иманином), или же оставались поверхностные помутнения роговицы, причем при лечении иманином с аскорбиновой кислотой полное выздоровление наступало значительно быстрее

(на 8-й—10-й день), тогда как при лечении альбуцидом с аскорбиновой кислотой или только альбуцидом выздоровление затягивалось на 2—3 недели. Кроме того, при лечении иманином рубцы на конъюнктиве и роговице были более нежными.

При ожогах III степени с частичным некрозом конъюнктивы и глубокими помутнениями роговицы лечение иманином способствовало не только более быстрому выздоровлению, но и улучшало исход.

Наблюдалось более быстрое высушивание ожоговой поверхности, чем при применении альбуцида и альбуцида с аскорбиновой кислотой, более интенсивная эпителизация роговицы и конъюнктивы, отсутствие грубых рубцов и других осложнений (симблефарона).

Во второй серии опытов изучались лечебные свойства иманина при различных химических ожогах глаз у собак (10 собак — 20 глаз) и кролика (1 кролик — 2 глаза).

Ожоги вызывались: 1) штукатурным раствором, состоящим из извести, цемента и песка (5 глаз собак); 2) известковым раствором, применяемым для наружной побелки зданий (5 глаз собак), 3) 20%-ной серной кислотой (10 глаз собак и 2 глаза кролика).

Растворы наносились чайной ложкой, после чего глаза промывались водой — в некоторых случаях немедленно, в других— через 3 мин., в третьих — через 5 мин. В результате были получены ожоги: I степени — 2, II степени — 10, III степени — 7 и IV степени — 3.

Лечение производилось 1%-ным раствором иманина, который закапывался в конъюнктивальной мешок, и путем закладывания 1%-ной иманиновой мази. В некоторых случаях лечение раствором начинали через 30 мин., в других — через 1 час. Лечение мазью начинали через 1 час. Первый день процедура повторялась каждый час, в дальнейшем 3 раза в день.

Ожоги I и II степени, независимо от вызвавшего их агента, во всех случаях зажили без последствий.

Все ожоги III степени оставили после себя нежные помутнения части роговицы, а в одном случае, вызванном серной кислотой, — интенсивное помутнение всей роговицы.

Ожоги IV степени оставили следующие осложнения: в одном случае (ожог вызван известковым раствором) образовалась лейкома роговицы; в двух случаях, вызванных серной кислотой, — на одном глазу незначительная, на другом — обширная лейкома.

Во всех случаях наблюдалось быстрое высушивание ожоговой поверхности и интенсивная эпителизация роговицы и конъюнктивы. Ни в одном случае не наблюдалось сращивания конъюнктивы века с конъюнктивой глазного яблока (симблефарон).

С 1959 г. мы начали применять иманин в клинике глазных болезней при ожогах глаз и гнойных язвах роговицы. Проводилось лечение 21 больного с ожогами глаз II, III и IV степени и больных с гнойными язвами роговицы. Ожоги были вызваны: щелочью — 12 случаев, кислотой — 3 случая; 6 ожогов были термическими.

В отношении тяжести поражения конъюнктивы и роговицы больные распределялись следующим образом:

Ожоги конъюнктивы II и III степени — 6 случаев
„ роговицы III степени — 7 случаев

Ожоги конъюнктивы и роговицы II—III степени — 6 случаев
„ „ „ IV степени — 2 случая.

Методика применения иманина при ожогах глаз была следующей: 1%-ный водный раствор инстиллировался в глаз в течение первых трех дней через каждые два часа в комплексе с аскорбиновой кислотой (1%-ный водный раствор) и сывороткой крови.

При гнойных язвах роговицы закапывание в конъюнктивальный мешок 1%-ного раствора иманина производилось 3—4 раза в день. Как при ожогах глаз, так и при гнойных язвах роговицы на ночь закладывалось 0,5—1%-ная иманиновая мазь.

В зависимости от полученных результатов всех больных мы разделили на четыре группы: к первой группе были отнесены больные, у которых применение иманина оказалось высокоэффективным и в первые же дни лечения купировало патологический процесс. У этих больных наблюдалось резкое уменьшение, а через 2—3 дня полное отсутствие гнойного отделяемого из конъюнктивального мешка; регенерация обожженных участков конъюнктивы и роговицы наступала в среднем в течение 4—5 дней, ни у одного больного не было сращений конъюнктивы глазного яблока с конъюнктивой век (симблефарон), просветление роговицы было на 14—15-й день. Острота зрения сохранялась в пределах 0,3—0,5 у восьми больных и у восьми больных — в пределах 0,1—0,3.

Во вторую группу отнесены больные, у которых лечение иманином лишь смягчало воспалительный процесс, но не вызывало коренного перелома в течении болезни. У них положительное действие иманина проявлялось на 8—10-й дни, в дальнейшем заметного влияния его не отмечалось. Третью группу составили больные, у которых иманинотерапия оказалась неэффективной.

Полученные результаты сведены в таблице.

Сравнивая результаты лечения ожогов глаз иманином с результатами лечения пенициллином и альбуцидом в комплексном лечении, мы отмечаем при применении иманина повышение регенеративных свойств тканей роговицы и конъюнктивы, в част-

Результаты лечения иманином больных с ожогами глаз

Ожоги	Значительное улучшение	Улучшение	Без изменений	Ухудшение
Щелочные	10	1	1	0
Кислотные	2	1	0	0
Термические	4	1	1	0
Всего	16	3	2	0

ности, ускорение эпителизации ожоговой поверхности, в результате чего отмечается быстрое просветление роговицы, а также отсутствие симблефарона. Если явления улучшения при лечении иманином мы отмечаем на 5—6-й день, то при лечении пенициллином и альбуцидом значительно позже — на 12—14-й день; сокращается и срок лечения ожогов глаз при пользовании иманином.

Никаких беспокойств и побочных явлений иманин в 1%-ном водном растворе при ожогах глаз не вызывал; иногда больные жаловались на кратковременное чувство жжения при закладывании 1%-ной мази, тогда мы переходили на применение 0,5%-ной мази.

Приведем наблюдение, где больному с первого дня пребывания в клинике применяли иманин (1%-ный раствор и мазь).

Больной Тол-ов А. М. (история болезни № 6336, 1959 г.) поступил со щелочным ожогом конъюнктивы и роговицы III степени на правом глазу. Лечение заключалось в закапывании иманина 3 раза в день; на ночь — иманиновая мазь; закапывалась и 1%-ная аскорбиновая кислота. Внутрь — витамины А, B_1, B_2, С и рыбий жир по столовой ложке 3 раза в день. В зависимости от показаний получал миотики или мидриатики.

Глаз сильно раздражен, наблюдаются светобоязнь и слезотечение, конъюнктива сильно гиперемирована, на внутреннем нижнем квандранте роговицы некротизированный участок 0,4 × 0,5 *см*. При окрашивании 1%-ным водным растворам метиленовой синьки этот дефект хорошо вырисовывается. Через 3—4 дня наступила регенерация; роговица была тусклой в течение 7—10 дней, а затем осталось лишь нежное помутнение, и зрение повысилось до 0,4.

Что же касается применения иманина при гнойных кератитах, то во всех 5 случаях обширных язв роговицы на второй-третий день мы отмечали очищение язвы от гнойного секрета; регенерация роговицы наступала также значительно быстрее, чем при лечении пенициллином и альбуцидом, глаза были более спокойными. У четырех больных остались нежные помутнения, а у одного, вследствие тяжести процесса, — бельмо.

Таким образом, применение иманина в глазной клинике в сочетании с этиотропным лечением дает ободряющие результаты.

На основании экспериментальных и клинических данных можно полагать, что местное применение иманина совершенно безопасно, у больных не отмечалось повышенной чувствительности к нему.

В тех случаях, когда иманинотерапия оказывается эффективной, действие иманина проявляется очень быстро.

Наши наблюдения интересны тем, что иманин в глазной клинике применен нами впервые.

Полученные нами данные побуждают к дальнейшему углубленному изучению применения иманина в глазной клинике.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Н. А. Дербенцева, Антимикробные вещества зверобоя пронзеннолистного (*Hypericum perforatum* L.) 5
С. И. Зелепуха, П. Я. Починок, Некоторые данные об антимикробной активности иманина А и новоиманина — новых препаратов из зверобоя пронзеннолистного 14
М. Я. Полунов, Влияние аэрозолей иманина на кровяное давление . 20
Ш. И. Паволоцкий, Антишоковые свойства иманина 23
М. Я. Полунов, Влияние аэрозолей иманина на сосудистый тонус и дыхание 25
М. Я. Полунов, Действие иманина на функцию мерцательного эпителия 31
Т. И. Иванова и Г. А. Мырсиков, О влиянии иманина на ретикуло-эндотелиальную систему в эксперименте 36
Б. Е. Айзенман, Т. П. Мандрик, Е. А. Киприанова, Опыт исследования противопухолевого действия антибиотиков из зверобоя пронзеннолистного 40
А. Д. Бобырь, Действие иманина на вирус табачной мозаики . . 46
А. Д. Бобырь, Некоторые данные о характере действия иманина на вирус табачной мозаики в растении 56
В. Д. Братусь, В. Д. Назаренко, Опыт применения иманина для лечения ожогов 61
М. Я. Полунов, Применение аэрозолей иманина в педиатрии . . 67
М. Е. Салант и М. Я. Полунов, Опыт местного применения иманина у детей после тонзиллэктомии 70
М. Я. Полунов, Применение аэрозолей иманина при воспалении придаточных пазух носа у детей в активной фазе ревматизма . . . 75
М. Я. Полунов и Н. А. Штарк, Опыт лечения аэрозолями иманина профессиональных заболеваний верхних дыхательных путей на джутовой фабрике 78
Г. В. Суслов, Лечение острой гнойной хирургической инфекции и ожогов растительным антибиотиком иманином 80
Н. А. Иванова, Применение иманина при газовой инфекции . . . 87
В. С. Горянинов, Применение иманина при ожогах глаз в эксперименте и клинике 91

Sax K. 1955. The effect of ionizinc radiation on plant growth. Amer. Journ. of Botany, vol. 42, № 4.
Sparrow A. H., Christensen E. 1953. Tolerance of certain higher plants to chronic exposure to gamma radiation from cobalt-^{60}. Science, vol. 118, № 3075.

Рекомендована кафедрой
генетики и селекции Московского
государственного университета
им. М. В. Ломоносова

Поступила 20 декабря 1961 г.

328

НАУЧНЫЕ ДОКЛАДЫ ВЫСШЕЙ ШКОЛЫ

1962 г. БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ № 4

БОТАНИКА

О НЕКОТОРЫХ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЯХ ГРИБА, ВЫЗЫВАЮЩЕГО АЛЬТЕРНАРИОЗ ХЛОПЧАТНИКА

Н. А. Бурутина, Е. А. Чиннов

Одно из малоизученных заболеваний хлопчатника — черная пятнистость или альтернариоз — встречается почти всюду, где возделывается эта культура. Симптомы болезни описываются разными авторами одинаково. Большинство исследователей отмечает наличие на листьях ржаво-коричневых пятен с рядом концентрических зон неправильной формы, окруженных иногда красноватым ореолом. Такие же признаки болезни наблюдаются на цветах и коробочках. Однако в литературе нет единого мнения относительно видового названия возбудителя заболевания. В качестве возбудителя болезни описаны *Alternaria macrospora* Zimm., *A. gossypina* (Thüm.) Hopkins, *A. tenuis* Nees, *Macrosporium nigricantium* Atk. (Л. Блэнк, 1956; A. Biraghi, 1937; J. Hopkins, 1931; M. Rane, M. Patel, 1956).

Многие авторы склонны считать возбудителя заболевания слабым паразитом, способным лишь в определенные годы при благоприятных условиях вызывать сильное поражение растений, вплоть до опадения листьев и мумификации волокон.

Мы попытались дать характеристику паразитической активности (вирулентности) гриба, вызывающего альтернариоз хлопчатника. Для опытов использовали гриб, близкий по морфологическим признакам к *A. tenuis*, патогенный для хлопчатника. Исследование вели методами, описанными ранее (М. В. Горленко, Е. А. Чиннов, Л. М. Левкина, 1957; М. В. Горленко, Г. Д. Успенская, 1960).

Материалом для работы послужили чистые культуры нескольких штаммов гриба, выделенных с пораженных листьев хлопчатника, которые были собраны М. В. Горленко в разных районах Советского Союза (Ташкент, Фергана) и в разных странах (Китай, Афганистан). Было выделено 4 штамма — ферганский, ташкентский, китайский и афганский. Для повышения вирулентности дважды проводили в теплице искусственное заражение листьев у растений хлопчатника одного сорта и возраста. После проведения первого заражения вирулентность всех штаммов повысилась настолько, что первые признаки заболевания листьев при повторном заражении были обнаружены на 4-й день вместо 7-го при заражении ферганским штаммом и на 5-й день вместо 8-го — остальными. С листьев хлопчатника, зараженных ферганским штаммом, было изолировано два штамма: № 1 и № 2.

При культивировании грибов на сусло-агаре и картофельно-декстрозном агаре все штаммы по культуральным признакам лишь незначительно отличались друг от друга (табл. 1); исключение составлял ферганский штамм № 1. У афганского штамма, по сравнению с другими, диаметр колоний был несколько меньше. Не было существенных различий и в размерах конидий (табл. 1).

Sax K. 1955. The effect of ionizinc radiation on plant growth. Amer. Journ. of Botany, vol. 42, № 4.
Sparrow A. H., Christensen E. 1953. Tolerance of certain higher plants to chronic exposure to gamma radiation from cobalt-60. Science, vol. 118, № 3075.

Рекомендована кафедрой генетики и селекции Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова

Поступила 20 декабря 1961 г.

828
delay. This publication

НАУЧНЫЕ ДОКЛАДЫ ВЫСШЕЙ ШКОЛЫ

1962 г. БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ № 4

БОТАНИКА

О НЕКОТОРЫХ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЯХ ГРИБА, ВЫЗЫВАЮЩЕГО АЛЬТЕРНАРИОЗ ХЛОПЧАТНИКА

Н. А. Бурутина, Е. А. Чиннов

Одно из малоизученных заболеваний хлопчатника — черная пятнистость или альтернариоз — встречается почти всюду, где возделывается эта культура. Симптомы болезни описываются разными авторами одинаково. Большинство исследователей отмечает наличие на листьях ржаво-коричневых пятен с рядом концентрических зон неправильной формы, окруженных иногда красноватым ореолом. Такие же признаки болезни наблюдаются на цветах и коробочках. Однако в литературе нет единого мнения относительно видового названия возбудителя заболевания. В качестве возбудителя болезни описаны *Alternaria macrospora* Zimm., *A. gossypina* (Thüm.) Hopkins, *A. tenuis* Nees, *Macrosporium nigricantium* Atk. (Л. Блэнк, 1956; A. Biraghi, 1937; J. Hopkins, 1931; M. Rane, M. Patel, 1956).

Многие авторы склонны считать возбудителя заболевания слабым паразитом, способным лишь в определенные годы при благоприятных условиях вызывать сильное поражение растений, вплоть до опадения листьев и мумификации волокон.

Мы попытались дать характеристику паразитической активности (вирулентности) гриба, вызывающего альтернариоз хлопчатника. Для опытов использовали гриб, близкий по морфологическим признакам к *A. tenuis*, патогенный для хлопчатника. Исследование вели методами, описанными ранее (М. В. Горленко, Е. А. Чиннов, Л. М. Левкина, 1957; М. В. Горленко, Г. Д. Успенская, 1960).

Материалом для работы послужили чистые культуры нескольких штаммов гриба, выделенных с пораженных листьев хлопчатника, которые были собраны М. В. Горленко в разных районах Советского Союза (Ташкент, Фергана) и в разных странах (Китай, Афганистан). Было выделено 4 штамма — ферганский, ташкентский, китайский и афганский. Для повышения вирулентности дважды проводили в теплице искусственное заражение листьев у растений хлопчатника одного сорта и возраста. После проведения первого заражения вирулентность всех штаммов повысилась настолько, что первые признаки заболевания листьев при повторном заражении были обнаружены на 4-й день вместо 7-го при заражении ферганским штаммом и на 5-й день вместо 8-го — остальными. С листьев хлопчатника, зараженных ферганским штаммом, было изолировано два штамма: № 1 и № 2.

При культивировании грибов на сусло-агаре и картофельно-декстрозном агаре все штаммы по культуральным признакам лишь незначительно отличались друг от друга (табл. 1); исключение составлял ферганский штамм № 1. У афганского штамма, по сравнению с другими, диаметр колоний был несколько меньше. Не было существенных различий и в размерах конидий (табл. 1).

Таблица 1

Культурально-морфологическая характеристика штаммов гриба из рода *Alternaria* на сусло-агаре (I) и на картофельно-декстрозном агаре (II)

Штамм	Диаметр колоний в *мм* на 6-й день роста		Цвет колоний		Характер роста колоний		Размеры спор в *мк* (длина на ширину)	
	I	II	I	II	I	II	I	II
Ферганский № 1	67	57	Сероватые, с белыми ободками по краям, снизу — темно-серые	Темно-серые в центре темно-зеленые по краям, снизу — оливково-серые	Почти прижаты к субстрату, бархатистые, края ровные	Почти прижаты к субстрату, бархатистые по краям, в центре ватообразные, края ровные	24,5:13,0	25,5:10,5
Ферганский № 2	65	65	Темно-зеленые, с белыми ободками по краям, снизу — серые	Темно-зеленые, с белыми ободками по краям, с вторичным белым мицелием в центре, снизу — серые	Прижаты к субстрату бархатистые, с ровными краями	Прижаты к субстрату, бархатистые по краям, ватообразные в центре, края ровные	30,5:12,5	28,5:13,0
Ташкентский	65	70	Синевато-серые, с белыми ободками по краям, снизу серые	Синевато-серые, с белым опушением по краям, снизу — серые	Приподняты над субстратом на 5 *мм*, войлочные, края ровные	Приподняты над субстратом на 5 *мм*, войлочные, края ровные	25,5:12,0	28 : 13,5
Китайский	58	62	Пепельно-серые, с белыми ободками по краям, снизу — темно-серые	Серые, с белыми ободками по краям, снизу—зеленовато-серые	Приподняты над субстратом на 2—3 *мм*, бархатистые, края ровные	Приподняты над субстратом на 3—4 *мм*, ватообразные, клочковидные, края ровные	21,5:10,0	21 : 12,0
Афганский	40	43	Темно-зеленые с белыми ободками по краям, снизу оливково-серые	Темно-зеленые, с белым краем, снизу—оливковые	Прижаты к субстрату, бархатистые, края ровные	Прижаты к субстрату, бархатистые, края ровные	26,5 : 9,6	26 : 10,0

Споры у *A. macrospora* и *A. gossypina* имеют длинные носики и по размеру значительно больше спор наших штаммов. У всех наших штаммов споры были обратно-булавовидными, без носиков и образовывали довольно длинные цепочки. По своим размерам они были ближе всего к группе *A. tenuis*. Размеры конидий у изученных нами штаммов изменялись в значительно меньших пределах, чем размеры спор *A. tenuis*: длина спор *A. tenuis* может составлять от 7 до 72 *мк*, а ширина — от 6 до 22,5 *мк*.

Вероятно, изученный нами гриб — это одна из форм *A. tenuis*, приспособившаяся к паразитированию на хлопчатнике, а возможно, и новый вид. Очевидно, то, что мы сейчас принимаем за *A. tenuis* Nees., на самом деле является сборным видом или, вернее, группой видов.

Для грибов из рода *Alternaria и Stemphylium* было установлено (М. В. Горленко, Е. А. Чиннов, Л. М. Левкина, 1957; М. В. Горленко, Г. Д. Успенская, 1960), что их паразитические виды и штаммы при выращивании на жидкой питательной среде с пептоном (пептон — 1%, глюкоза — 2%, KH_2PO_4 — 0,1% и $MgSO_4$ — 0,1%) оставляют в среде до 6 *мг* аминного азота на 1 *г* сухого мицелия.

Мы определяли содержание аминного азота в фильтратах двухнедельных культур у штаммов, хранившихся 1,5—2 года в лаборатории, у штаммов, дважды проведенных через растение, и у штаммов, подвергшихся в течение 2 месяцев восьмикратному пересеву. У штаммов, хранившихся долгое время в культуре, вирулентность была сильно снижена, и в фильтрате оставалось 2,88—4,72 *мг* аминного азота (табл. 2). При проведении через растение вирулентность штаммов повышалась и в фильтрате оставалось меньше аминного азота, причем у наиболее вирулентного ферганского штамма количество аминного азота в фильтрате было значительно меньше (1,95 *мг*), чем у других штаммов. При снижении вирулентности количество аминного азота в среде, на которой культивируются грибы, возрастает, причем снижение вирулентности происходит постепенно. Это особенно хорошо видно на примере штаммов, предварительно дважды проведенных через растение, а затем хранившихся в лаборатории в течение 2 месяцев с последующими восьмикратными пересевами. Вирулентность этих штаммов снизилась на 24—29% по сравнению с вирулентностью штаммов, дважды проведенных через растение (табл. 2).

Таблица 2

Биохимическая характеристика степени паразитизма штаммов гриба из рода *Alternaria*

Штамм	Количество аминного азота в фильтрате в *мг* на 1 *г* сухого мицелия у штаммов			Вирулентность штаммов, хранившихся 2 месяца с восьмикратным пересевом, в % к вирулентности штаммов, дважды проведенных через растение
	хранившихся в культуре 1,5—2 года	дважды проведенных через растение	хранившихся 2 месяца с восьмикратным пересевом	
Ферганский № 1 . . .	—	1,9505	2,4402	75
Ферганский № 2 . . .	3,8655	1,9[illegible]0	2,4830	74
Ташкентский	2,8805	2,5930	3,3603	71
Китайский	4,7275	3,0775	3,8223	76
Афганский	4,2815	3,8764	Не определялось	—

В настоящее время установлено, что паразиты, вызывающие увядание или усыхание растений, выделяют токсически действующие вещества. Гойману (E. Gäumann, 1954) удалось обнаружить у *A. solani* раз-

личные токсические вещества, два из которых — альтернариевая кислота и альтернарин — были выделены им в чистом виде. Мы исследовали способность разных штаммов возбудителя альтернариоза хлопчатника образовывать токсины, а также пытались установить связь между токсинообразованием у этих штаммов и степенью их паразитизма.

Токсичность штаммов изучаемого гриба проверяли по увяданию трехнедельных растений хлопчатника, которые помещали в фильтраты из-под трехнедельных, полутора- и двухмесячных культур гриба; концентрация фильтратов составляла 100, 50, 25 и 10%. Для получения фильтратов грибы культивировали при температуре 26°С на жидкой питательной среде Рихарда (KNO_3 — 10 *г*, $MgSO_4$ — 2,5 *г*, KH_2PO_4 — 5 *г*, глюкоза — 50 *г*, $FeCl_3$ — 20 *мг*, дистиллированная вода — 1 *л*). Контролем служили вода и исходная среда Рихарда, так как сама питательная среда могла не соответствовать требованиям опытных растений. В питательной среде Рихарда из-за высокой концентрации раствора (100 и 50%) и в фильтратах той же концентрации из-под культур гриба опытные растения быстро увядали. Поэтому для исследований использовали растения, помещенные в 10-процентные фильтраты. Было изучено действие фильтратов из-под исходных штаммов, сохранявшихся в культуре 1,5—2 года, и из-под штаммов, дважды проведенных через растения.

Опыты показали, что все штаммы выделяют в питательную среду токсически действующие вещества, причем наиболее интенсивно после двухмесячного выращивания на среде Рихарда. В фильтратах из-под штаммов, хранившихся в лаборатории 1,5—2 года, увядание растений наступало на 4-е сутки (у афганского штамма — на 5-е), а в фильтратах из-под штаммов, которые проводили через растения, — значительно раньше. Опытные растения увядали в фильтратах из-под культур ферганского штамма № 1 на 2-е сутки, ташкентского, китайского и ферганского штамма № 2 — на 3-и сутки и афганского — на 4-е сутки. Листья контрольных растений сохраняли тургор и выглядели вполне нормальными в течение 8—12 суток.

Следовательно, наиболее ярко паразитические свойства выражены у ферганского штамма № 1, наименее — у афганского. Это подтверждается результатами искусственного заражения, различной способностью штаммов выделять токсически действующие вещества и степенью паразитизма, определенной биохимическим методом.

ЛИТЕРАТУРА

Блэнк Л. 1956. Пятнистости листьев хлопчатника. В кн.: Болезни растений. Ежегодник Министерства земледелия США. ИЛ, М.

Горленко М. В., Успенская Г. Д. 1960. Биохимический метод определения паразитизма у грибов из рода *Stemphylium*. Докл. АН СССР, т. 131, № 3.

Горленко М. В., Чиннов Е. А., Левкина Л. М. 1957. Биохимический метод определения паразитизма у грибов из родов *Alternaria* и *Cladosporium*. Докл. АН СССР, т. 116, № 3.

Biraghi A. 1937. Una «mummificazione» del Cotone causata da *Alternaria*. Bollettino della R. stazione di patologia vegetale. Anno XVIII — Nuova Serie, № 4.

Gäumann E. 1954. Toxins and plant diseases. Endeavour, vol. 13, № 52

Hopkins J. C. F. 1931. *Alternaria gossypina* (Thüm.) comb. nov. causing a leaf spot and boll rot of cotton. Trans. Brit. Mycol. Soc, vol. 16, p. 136—144.

Rane M. S., Patel M. K. 1956. Diseases of cotton im Bombay. I. Alternaria leaf-spot. Indian Phytopathol., vol. 9, № 2.

Рекомендована кафедрой низших растений Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова

Поступила 27 октября 1961 г.

should not be marked by

НАУЧНЫЕ ДОКЛАДЫ ВЫСШЕЙ ШКОЛЫ

1962 г. БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ № 4

БОТАНИКА

К МОРФО-ЭМБРИОЛОГИЧЕСКОМУ ИЗУЧЕНИЮ ОРГАНОГЕНЕЗА КУКУРУЗЫ

Н. Г. Афанасьева

Выведение новых сортов кукурузы и размещение их в соответствующих почвенно-климатических зонах требует изучения жизненного цикла ч, в частности, процесса формирования органов плодоношения.

Нами было проведено морфо-эмбриологическое изучение процессов развития генеративных органов у кукурузы сортов: скороспелая Казанская-108, среднеспелая Грушевская-Одесская и позднеспелая Одесская-10, выращиваемых в одинаковых условиях на полях Казанской селекционной станции (Ш. В. Валеев, 1959). Исследования проводили для того, чтобы выяснить возможность использования тех или иных сортов кукурузы для целей селекции в условиях Татарской АССР.

Почвы на селекционной станции — дерново-подзолистые с малым содержанием гумуса (2—2,5%). Материал собирали летом 1959 г. в течение июня—августа. Климатические условия в этот период характеризовались следующими данными (табл. 1).

Таблица 1

Декады	Температура воздуха в град. С		Осадки в *мм*	Относительная влажность в %	
	средняя	максимальная		средняя	максимальная
Июнь					
I	17,1	28,1	2,2	49	23
II	9,3	28,7	10,3	64	28
III	15,9	26,6	40,1	74	38
Июль					
I	24,3	33,4	25,9	63	26
II	18,6	28,2	27,1	67	33
III	20,4	30,8	8,2	64	32
Август					
I	19,5	30,1	0,5	56	29
II	17,2	26,1	29,0	73	38
III	13,7	26,6	16,1	71	38

Верхушки стеблей, позднее метелки и початки, мужские и женские цветки собирали с 7 до 8 *час* утра. Материал фиксировали и обрабатывали по методу М. С. Навашина (1936). Стекла с микротомными срезами окрашивали по Фельгену с подкраской лихт-грюном. Препараты просматривали и зарисовывали с помощью рисовального аппарата Аббе с увеличением 90×10.

cutată şi sub acest aspect, din punctul de vedere al economicităţii.

Menţionăm că de la caz la caz asemenea situaţii pot fi întîlnite pe distanţe diferite şi de aceea încă de la proiectul de ansamblu terenul trebuie studiat de către ingineri cu experienţă sau cel puţin studiate cu mare atenţie hărţile cu curbe de nivel. Dacă capetele zonelor grele respective se pot racorda la instalaţiile de care sînt condiţionate, conducerea traseului pe deasupra zonei periculoase duce la construcţii ieftine, sigure şi uşor de realizat. Practic, de la circa 800 000 lei/km cît a fost prevăzut drumul cu bandă dublă sus amintit, se poate ajunge în ipoteza a III-a din figura 1 la circa 270—300 000 lei/km, din care majoritatea va reprezenta suprastructura, iar multe accesorii şi în specia parapetele nu vor mai fi necesare. Cu economia de la investiţii se poate construi încă un drum colector spre partea superioară a versantului, care are circa 1,5—2 km, excluzîndu-se astfel complet funicularele. În aceste cazuri, cantitatea mică de material rezultată din tăieri principale sau din operaţii de igienă, din partea de jos a drumului magistral, rămîne a se trage cu troliile adaptate la tractoarele forestiere, fiind vorba de distanţe mici, de circa 150—300 m.

Deci, problema organizării tehnologiei exploatărilor se simplifică şi, implicit, prin micşorarea distanţei, se reduce preţul de la fazele de scos-apropiat, corhănire, rampe de încărcare costisitoare etc.

De asemenea, avantajul multilateral pentru cultura pădurilor şi recoltarea produselor secundare este incontestabil, deoarece în această soluţie, pentru cantitatea mică de masă lemnoasă a acestora şi a celor accidentale, nu mai rentează montarea funicularelor, fără de care este greu de adus lemnul la instalaţia de transport situată peste zona abruptă.

În alte situaţii, în care se găsesc văi înguste în albiile principale, însă de pe ambii versanţi trebuie recoltat lemnul, un singur drum situat deasupra zonei periculoase nu poate rezolva problema. Soluţia de compromis în cazul văilor mai mici şi cînd drumul nu este mult prea sus ca să se traverseze în dreptul gurilor de exploatare este tot un singur drum care, după cum se arată în figurile 3 şi 4 să facă aceste traversări (ipoteza I). În cazul cînd există un masiv mai important, respectiv o vale mai mare, soluţia traversărilor este prea costisitoare, iar traseul fiind prea sus, elementele geometrice precum şi condiţiile de exploatare impun analizarea construcţiei a două drumuri pe ambii versanţi.

După un calcul sumar, rezultă că pentru un metru liniar de zidărie cu o secţiune transversală de numai 2 m^2 se cheltuie în lei deviz circa 300 lei (incluzînd cheltuielile indirecte) cu toate dezavantajele sus arătate, în timp ce un eventual surplus de debleu în cazul a două drumuri, chiar de 5 m^3/m executat manual, costă numai $23 \times 5 = 115$ lei. Această diferenţă compensează plusul de cheltuieli de la suprastructura a două drumuri, iar prin săpăturile mecanizate debleierea costă circa 30 lei şi compensează astfel cu prisosinţă şi diferenţele de la întreţinere, care teoretic conform traficului ar trebui să fie minime.

Avantajele economice şi organizatorice la exploatare şi în continuare în gospodăria silvică, în cazul drumurilor pe ambii versanţi, sînt evidente. Analitic, putem vedea din figura 3 că săpăturile ambelor drumuri de coastă sînt mai mici ca ale drumului

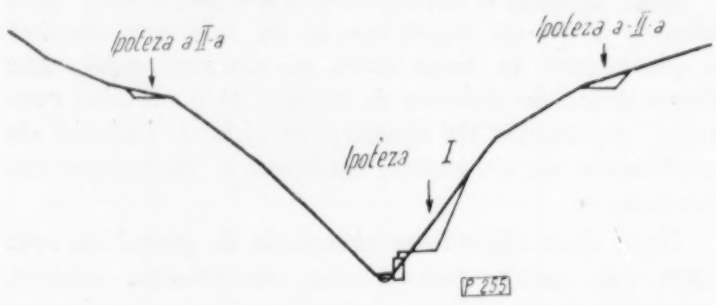


Fig. 3. Profil transversal care reclamă construirea a două drumuri.

din talveg, fără a calcula cheltuielile de organizare implicate de materiale.

Suprastructura celor două drumuri va costa $(18{,}6\% \times 2) \times 0{,}70 = 104\,200$ lei. Se precizează că pe parcursul redactării acestei lucrări a apărut articolul tov. ing. P. Bradosche în care se redau preţurile medii realizate şi procentele fiecărei părţi din preţul total mediu, considerat de 400 000 lei/km. Chiar dacă s-ar considera toate celelalte componente ale preţului total al drumurilor invariabile, preţul celor două drumuri va fi de $91{,}7 \times 2 + 104\,200 + 60\,000 = 347\,600$ lei. La acest calcul s-a ajuns în ipoteza cea mai defavorabilă posibil. În multe cazuri însă, costul a două drumuri construite în cea mai uşoară zonă a versantului nu va putea depăşi 250 000 lei pe km, după cum a rezultat din experienţa lucrărilor executate în regie.

Deci, în vederea introducerii mecanizării şi economicităţii lucrărilor de construire a drumurilor forestiere, trebuie ca proiectarea să fie profilată în sensul celor arătate. La cazul exemplificat prin Nera, partea a III-a, zonele în care nu sînt necesare ziduri

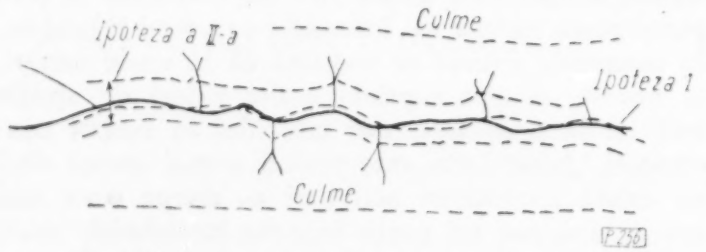


Fig. 4. Schiţa unei văi care reclamă construirea a două drumuri

prezintă prin natura terenului derocări masive. Considerînd că în aceste zone se face platforma de 4,5 m în loc de 6—7 m în aliniamente, avem în plus o diferenţă de săpătură în stîncă mijlocie de minimum 5 m^3/m, ceea ce revine la suma de $28 \times 5 = 140$ lei/m.

De asemenea, diferenţa de la o bandă dublă de 5,5 m de suprastructură la două benzi simple nu este decît de 0,5 m^2/m, ceea ce revine la circa

20 lei/m, respectiv 20 000 lei/km. În ipoteza celor două drumuri de pe coastă în loc de un singur drum cu bandă dublă pe vale, nu este neapărat necesar ca acestea să aibă şi platforma îngustă, fiindcă în condiţiile de teren uşor înclinat supralărgirea cu 1—2 m este foarte ieftină aproape în toate porţiunile şi astfel se poate realiza încrucişarea cu o viteză mai redusă aproape peste tot (fără suprastructură dublă).

Desigur, în cazurile în care albia pîraielor va traversa traseul, se va proiecta drumul cu o viteză mai mică de parcurs, ceea ce va face ca pe o zonă de 2—5 km să existe o întîrziere de minute în timpul parcurs de autocamioane. Dezavantajul este însă extrem de mic faţă de economii.

În concluzie, deoarece lucrările de terasamente reprezintă 40,9%, iar lucrările de apărare 15,3%, se pot face următoarele consideraţii :

1. În vederea economicităţii şi extinderii mecanizării în construcţia de drumuri forestiere, trebuie căutată de jos în sus zona în care se pot introduce buldozerele, pentru o execuţie ieftină şi rapidă a terasamentelor.

2. În funcţie de procesul tehnologic al exploatărilor, se va aprecia de către ingineri cu experienţă — care să poată întrevedea finalitatea investiţiei — dacă este oportună şi rentabilă străbaterea anumitelor zone stîncoase, în vederea realizării unei direcţii cît mai favorabile transporturilor sau ocolirea acestor zone. Această muncă suplimentară de teren, în cazurile cînd nu sînt aerofotograme sau hărţi directoare, pe ale căror curbe de nivel să se poată baza alegerea — în principiu — a traseului, va fi compensată cu prisosinţă de simplificările radicale pe care le va aduce proiectarea în terenuri mai uşoare şi prin execuţia mecanizată.

3. Deşi nu sîntem în posesia unor postcalcule ale unor drumuri de coastă realizate cu buldozerul, pentru a face calcule comparative amănunţite, din documentaţia amintită putem afirma că valoarea terasamentelor de 40,9% şi a zidurilor de sprijin de 15,3%, care totalizează 56,2%, se va reduce la circa 15%. Deci, de la valoarea totală medie de 400 000 lei/km, din cei 56,2% care reprezintă 224 000 lei, terasamentele vor necesita 60 000 lei, ajungîndu-se astfel la 236 000 lei/km.

4. În cazul că se execută două drumuri — pe ambii versanţi cîte un traseu — pentru evitarea zonelor abrupte şi, în speţă, a evitării zidurilor de sprijin şi a derocărilor masive, după cum s-a arătat, ambele drumuri vor costa circa 347 600 lei, avîndu-se în vedere că traficul redus va permite o reducere a suprastructurii cu circa 30%.

5. În cazul executării a două drumuri, cheltuielile directe ale producţiei la faza scos-apropiat şi cele indirecte prin executarea de poduri, drumuri şi alte construcţii pasagere, vor fi reduse cu circa 20—30% la produsele principale. De asemenea, se vor putea astfel identifica şi valorifica, mult mai uşor, produsele occidentale şi cele secundare.

Drumul de lingă apă, care nu trece efectiv prin pădure, oferă pentru pază, protecţie şi, în general pentru gospodăria silvică, o serie de dezavantaje pe care nu le detaliem, care sînt eliminate în cea mai mare parte în cazul descris.

6. Faţă de actualele tarife ale transportului auto, desfăşurarea mai mare a traseului pe cei 2—5 km de zonă grea poate aduce o lungire a acestuia de circa 1—2 km în plus la distanţa totală de transport de circa 20—40 km, şi deci o diferenţă de tarif neglijabilă.

Desigur că discernămîntul, competenţa şi consultarea largă a inginerilor şi practicienilor vor da, de la caz la caz, soluţiile cele mai eficiente, astfel ca măreaţa sarcină de construire a reţelei de drumuri forestiere să fie îndeplinită la timp şi la cel mai avansat nivel tehnic posibil.

Starea fitosanitară forestieră din Delta Dunării în perioada 1955-1960

Ing. **N. I. Dragomir** şi ing. **St. Bărbat**
Staţiunea INCEF Constanţa

C.Z. Oxf. 162:4

Delta Dunării este cea mai nouă formaţie a teritoriului ţării noastre, în continuă evoluţie sub acţiunea combinată a unor fenomene fluviale şi marine care se produc pe linia ţărmului.

Despre acest „paradis" al păsărilor din imensa întindere a apelor bogate în peşte şi a „împărăţiei" stufului s-a scris mult în decursul timpului. Despre pădurile din Delta Dunării lipsesc scrieri mai vechi. Majoritatea lucrărilor sînt de dată recentă (din ultimii 40—50 de ani).

Ultima lucrare despre deltă : „Cercetări forestiere şi cinegetice din Delta Dunării" cuprinde cercetările INCEF din perioada 1955—1958. Lucrarea tratează despre condiţiile climatice, geomorfologice şi hidrologice, staţiunile forestiere, vegetaţia naturală şi tipurile de pădure din Delta Dunării. Se descriu rezultatele cercetărilor privind cultura şi refacerea pădurilor, fauna cinegetică, economia şi organizarea gospodăriei silvice. Ar fi fost nimerit ca lucrarea să cuprindă şi date privind starea fito-

sanitară a vegetației forestiere și studiul statistic al principalilor factori biotici și abiotici vătămători care condiționează în bună parte existența și dezvoltarea arboretelor.

Lucrarea de față prezintă cunoștințe asupra principalelor boli și dăunători ai arboretelor din deltă.

Vegetația forestieră instalată în mod spontan cît și împăduririle executate în ultimele decenii ocupă terenurile situate pe grindurile fluvio-maritime din

Fig. 1. Aspect din pădurea Caraorman; se observă deformarea coroanei sub influența acțiunii vîntului.

delta inferioară și locurile mai ridicate de pe grindurile fluviale și continentale din delta superioară și mijlocie.

Din suprafața patrimoniului forestier din deltă, care depășește 18 000 ha, suprafața acoperită efectiv cu păduri reprezintă abia 11 000 ha, din care peste 4 000 ha sînt arborete degradate, cu consistența foarte redusă, sau de tip provizoriu, care trebuie refăcute sau substituite.

În compoziția speciilor ce alcătuiesc pădurile din Delta Dunării intră : salcia (65%), plopii (18%), stejarul (8%), frasinul (6%), salcimul (1%), diverse specii cu lemn tare și aninul (1%) și cătina (2%).

Conform amenajamentului întocmit în anul 1954, s-a stabilit zonarea funcțională a pădurilor din deltă în două grupe :

Grupa I — păduri cu rol deosebit de protecție.

Grupa a II-a — păduri cu rol de producție și de protecție.

Cea mai mare parte din suprafața pădurilor (peste 80%) este gospodărită în regimul crîng, iar restul în regimul codru. Din totalul pădurilor, arboretele tinere, în vîrstă pînă la 15 ani, reprezintă peste 60%.

În lumina acestor caracteristici ale pădurilor din deltă, se analizează situația fitosanitară din perioada 1955—1960.

În arboretele existente în Delta Dunării, situate atît pe grindurile fluviale cît și pe cele fluvio-maritime, au existat și există aproape toți dăunătorii specifici speciilor care compun arboretele. Dăunătorii s-au menținut în general în starea de latență și numai o mică parte dintre ei au format focare active, producîndu-se supraînmulțiri.

În perioada 1955—1960 s-au depistat următoarele focare active ale dăunătorilor din arboretele situate în Delta Dunării :

A. Dăunători

a) Lymantria dispar L. În plantațiile tinere de plopi negri hibrizi din U.P. II-Tudor Vladimirescu a avut loc un atac slab, în anul 1955, pe suprafața de 100 ha. În anul 1956, din cauza inundațiilor mari și prelungite, nu s-au putut efectua combateri. Focarul a evoluat, infestînd suprafețele vecine. În anul 1957 s-au executat combateri pe suprafața de 200 ha în acest focar, prin petrolizarea ouălor de pe arbori pînă la înălțimea de 4 m. În anul 1958 atacul a crescut atît ca suprafață cît și ca intensitate.

S-a efectuat combaterea tot prin petrolizarea ouălor pe suprafața de 270 ha. În urma combaterii atacul s-a redus. În anul 1959 atacul s-a înregistrat în jurul aceluiași focar, pe 108 ha. S-au făcut combateri prin prăfuiri cu Gesaktiv. În anul 1960 au apărut focare secundare în același trup de plantații, pe suprafața de 178 ha, și s-au efectuat combateri prin prăfuiri cu Gesaktiv, lichidîndu-se focarele.

În toamna anului 1960 s-au depistat noi focare active, tot în plantațiile tinere de plopi negri hibrizi, în unitățile de producție Uzlina, Carasuhat și Dranov, situate în aval de U.P. II-Tudor Vladimirescu, la distanțe între 30 și 60 km. S-a apreciat că dăunătorul se găsea în faza a II-a, anul I, a gradației, cu tendință de creștere. S-au programat combateri în primăvara anului 1961.

Dăunătorul a fost depistat în stare de latență în toate plantațiile de plop și arborete de salcie în amonte de Mahmudia, pînă la Ceatalul Ismailului.

b) Tortrix viridana L. În șleau-plopișurile de hazmac de productivitate mijlocie și în stejăretele amestecate de hazmac de pe grindul Letea, s-a petrecut un atac de *Tortrix viridana* în anul 1960, pe suprafața de 282 ha, cu tendința de dezvoltare. Focarul s-a format în trupul de pădure Hazmacul Mare, după 1955 și a evoluat lent. În același trup de pădure s-a petrecut și un atac de cotari. Combaterile executate în anii 1959 și 1960 nu au lichidat atacul. Este necesar ca în anul 1961 să se execute combateri pe toată suprafața Hazmacului Mare, precum și în hazmacurile limitrofe, unde dăunătorul se găsește în stare de latență.

c) Operophthera brumata L. Dăunătorul a fost depistat în stare de latență în anul 1956 tot în Hazmacul Mare de pe grindul Letea. Evoluția s-a produs lent. În anul 1958 a apărut un focar primar pe suprafața de 20 ha, care a evoluat repede, infestînd în anul 1959 suprafața de 140 ha. După combaterile din anul 1959 atacul a fost redus ca suprafață, însă nu a fost lichidat. În anul 1960 a fost găsit pe o suprafață de numai 40 ha. În urma com-

baterilor se consideră că dăunătorul a fost readus în stare de latență.

Pentru dăunătorii *Tortrix viridana* și *Operophthera brumata* depistați în trupurile de pădure (hazmace) de pe grindul Letea, este necesar să se continue cercetările staționale, să se stabilească caracteristicile cantitative și calitative ale dăunătorilor, evitînd surprizele ce se pot ivi, dat fiind că dăunătorul există aproape în toate hazmacele în stare de latență și cu tendință de înmulțire.

d) Hyponomeuta padella L. În anul 1960 s-au depistat două focare în plantațiile tinere de plopi negri hibrizi și sălcii din U.P. VIII-Tătaru și U.P. IX-Babina, în suprafață totală de 80 ha. Atacul este în dezvoltare și urmează a se efectua combateri în anul 1961. Focarele primare se găsesc în plantațiile de pomacee din vecinătate.

e) Lytta vesicatoria. Începînd cu anul 1955, se constată un atac slab în plantațiile de frasin de Pensylvania din unitățile de producție Beiu și Ivanova, pe suprafața de 10 ha. Din cauza viiturilor mari, nu s-au efectuat combateri pînă în anul 1958, atacul s-a menținut pe aceeași suprafață, însă a crescut în intensitate. După combaterile făcute prin culegerea gîndacilor în 1958, atacul a scăzut atît ca suprafață cît și ca intensitate. În anul 1959 atacul s-a prezentat numai pe 5 ha și în 1960 numai pe 3. *L. vesicatoria* a fost prezent în fiecare an și în vetrele de semințișuri naturale de frasin de la Letea și Caraorman, producînd defolieri pe suprafețe mici.

f) Phyllodecta vulgatissima L. În anul 1959 s-a petrecut un atac mijlociu pe suprafața de 129 ha în plantațiile de plopi negri hibrizi tot în unitățile de producție Beiu și Ivanova.

În anul 1960 nu s-au efectuat combateri. Atacul este în dezvoltare, cu tendința de a se extinde în suprafață și intensitate în anul 1961, dacă nu se vor efectua combateri, mai cu seamă că s-au determinat două generații pe an.

g) Saperda populnea L. În anul 1958 s-a constatat un atac slab în plantațiile tinere de plopi negri hibrizi din unitățile de producție Beiu, Ivanova, Pardina, Ada Marinescu, Carasuhat, Uzlina și Dranov, fără a se efectua combateri. În anul 1960 atacul este staționar în aceleași plantații. Se pare a avea tendințe de dezvoltare în anii 1961—1962.

h) Paranthrene tabaniformis. În anul 1959 a avut loc un atac mijlociu în plantația de plopi negri hibrizi de la Dunavăț, pe suprafața de 40 ha. Focarul fiind izolat și la mari distanțe de alte plantații de plopi negri hibrizi, nu s-au efectuat combateri în anul 1959. În anul 1960 atacul a crescut în intensitate.

În anul 1960 s-au depistat focare noi în U.P. Beiu, U.P. Ada Marinescu și U.P. Dranov, pe suprafața totală de 186 ha. Atacul este mijlociu și urmează a se efectua combateri în 1961.

i) Croesus septentrionalis. În plantațiile de anin negru de pe grindul Letea, situate între comuna C. A. Rosetti și satul Cardon, spre Sfiștofca, a fost depistat un focar primar în anul 1957, pe suprafața de 10 ha. Combaterile efectuate prea tîrziu nu au reușit să lichideze atacul. În anii 1958 și 1959 focarul s-a dezvoltat din nou pe aceeași suprafață. S-au efectuat combateri prin prăfuire cu Gesaktiv, care au lichidat focarul primar. În anul 1960 au apărut alte focare în plantațiile de anin negru limitrofe, pe suprafața de 15 ha. Combaterile din anul 1960 par să fi readus dăunătorul în stare de latență, totuși este posibilă apariția de noi focare active în 1961.

j) Cărăbuși. Pe nisipurile de pe grindurile Letea și Caraorman există un mare număr de cărăbuși, în special pe dunele întinse dintre hazmace. Pe grindul Letea, în plantațiile tinere, s-a depistat un atac puternic de larve de cărăbuși încă din anul 1958, pe suprafața de 100 ha. Larvele s-au găsit la mare adîncime, uneori pînă la 2 m. Numărul lor la metrul pătrat variază între 10 și 50 buc. Combaterile executate pînă în prezent nu au dat rezultatele scontate. Este necesar să se experimenteze diferite insecticide și să se stabilească eficacitea acestora în combaterea dăunătorilor din sol în condițiile specifice de pe nisipurile fluvio-maritime, înainte de plantare.

B. Paraziți vegetali

a) Pseudomonas syringae (Van Hall). A fost depistat în anul 1959 pe suprafața de 3 ha, în plantațiile de plopi negri hibrizi în vîrstă de 11—12 ani din ostrovul Beiu și Tudor Vladimirescu. Ca măsuri de prevenire a extinderii atacului, s-au extras toți arborii infectați. În plantațiile tinere de plopi negri hibrizi din unitățile de producție Ivanova, Beiu, Tudor Vladimirescu, Carasuhat, Pestrițele și Uzlina sînt condiții favorabile pentru apariția cancerului bacterian al plopului, dat fiind că rărițurile s-au executat cu întîrziere, consistența fiind încă 0,9—1,0.

În afară de dăunătorii menționați, este necesar să arătăm că arboretele din Delta Dunării, situate atît pe grindurile fluviale cît și pe grindurile fluvio-maritime, au fost intens pășunate pînă în anul 1957. Pagube însemnate s-au produs în special în trupurile de pădure de pe grindurile Letea și Caraorman, unde semințișurile naturale de plop alb, frasin, stejar și alte specii au fost an de an distruse. De asemenea, trebuie amintite și delictele prin care s-au extras unele exemplare de frasin și stejar din hazmace. S-a folosit și sistemul tăierii repetate a crăcilor exemplarelor bătrîne de stejar și frasin, provocînd degradarea treptată a acestora, după care a urmat uscarea.

În general se poate afirma că în perioada 1955—1960 situația fitosanitară a fondului forestier din Delta Dunării a fost satisfăcătoare, perioadă în care nu au fost atacuri puternice pe suprafețe mari, care să fi provocat pagube economiei forestiere. Totuși, avînd în vedere existența unei suprafețe de peste 4 000 ha de arborete degradate, creșterea suprafețelor plantate cu plopi negri hibrizi și un mare număr de dăunători exis-

tenți, în prezent în stare de latență, putem trage concluzia că în viitorul apropiat ar putea să apară focare active pe mari suprafețe, care pot provoca pagube importante dacă nu se vor lua la timp măsuri de combatere.

Bibliografie

[1] Ilinski, A.: *Obsledovanie Zaselionosti*, Goslesbumizdat, Moskva, 1951.
[2] Flerov, S. K., Ponomareva, N. E., Cliușnik, I. P. și Voronțov, I. A.: *Protecția pădurii* (traducere din limba rusă). E.A.S.S., București, 1952.
[3] Vanin, S. I.: *Fitopatologie* (traducere din limba rusă). E.A.S.S. București, 1952.
[4] Petrescu, M.: *Bolile criptogamice ale salcîmului.*
[5] Fosteris, St., Bontea, V. și Decerescu, D.: *Manual de fitopatologie.* Editura de stat pentru literatură științifică, București, 1952.
[6] Ene, M.: *Insecte vătămătoare pepinierelor și plantațiilor forestiere.* I.C.F. Seria II-Tratate-Manuale, nr. 7, E.A.S.S., București, 1955.
[7] Georgescu, C. C., Ene, M., Petrescu, M., Ștefănescu, M. și Miron, V.: *Bolile și dăunătorii pădurilor — Biologie și combatere.* E.A.S.S., București, 1957.
[8] Eliescu, Gr.: *Lythocolletis populifoliella* (Tr), *un fluture vătămător frunzelor de plop.* ICEF, Seria II, Referate-Comunicări, nr. 16, București, 1937.
[9] Eliescu, Gr.: *Contribuții la cunoașterea insectelor vătămătoare pădurilor din Romînia.* ICEF, Seria II, Referate-Comunicări, București, 1939.

Uscarea puieților de plopi negri hibrizi produsă de ciupercile *Dothichiza populea* și *Cytospora chrysosperma* și combaterea ei

El. Poleac
Institutul de cercetări forestiere

C.Z. Oxf. 443.2:176.1 *Populus*

Cultura plopilor negri hibrizi, care s-a dezvoltat mult în ultimii ani, ridică o serie de probleme importante, printre care se numără și cele de protecție. Crearea unor plantații viguroase, luarea de măsuri pentru prevenirea bolilor și dăunătorilor, precum și depistarea la timp și cu precizie a acestora, cît și combaterea lor, pun probleme ce trebuie să stea în atenția tuturor organelor silvice care au în raza lor de activitate culturi de plopi negri hibrizi.

În cele ce urmează se vor arăta unele aspecte în legătură cu atacul unor ciuperci care produc uscarea puieților de plopi negri hibrizi, precum și unele măsuri de prevenire și combatere a acestora.

Fenomenul de uscare în masă a puieților de plopi negri hibrizi n-a fost semnalat în plantațiile de la noi pînă în primăvara anului 1961, cînd în raza Ocolului silvic Corabia o suprafață de peste 30 ha, plantată în toamna anului 1960 și în primăvara anului 1961, a fost compromisă din cauza atacului produs de ciupercile *Dothichiza populea* Sacc. et Br. și *Cytospora chrysosperma* (Pers.) Fr.

Ciuperca *Dothichiza populea* a fost găsită la noi în anul 1925 pe *Populus monilifera*, într-o plantație de lîngă Vaslui. Recoltarea și determinarea materialului a fost făcută de prof. Tr. Săvulescu și S. Ville.

Pînă în momentul de față noi nu avem un studiu asupra biologiei, răspîndirii, pagubelor și măsurilor de prevenire și combatere a acestei ciuperci. Acest lucru se datorește faptului că ciuperca respectivă nu a produs pagube mari în pepinieră și plantații de plopi negri hibrizi pînă în anul acesta, ea fiind găsită numai pe ramuri uscate, ca o ciupercă saprofită.

Literatura de specialitate dă date precise asupra pagubelor pe care le produce ciuperca *Dothichiza populea*. Astfel, Boyce (S.U.A.) arată că în anul 1921 pepinierele de plop au fost distruse în proporție de 90—100%; acad. A. Kalandra (R.S. Cehoslovacă, 1960) consideră această boală ca fiind cea mai gravă, deoarece produce vătămări clonelor în vîrstă de 1 an sau 2 ani. Prof. dr. J. Kîspatic (1960) și ing. I. Herpka (1960) afirmă, în lucrările lor, că în R.P.F. Jugoslavia o bună parte din plantații sînt distruse de ciuperca *Dothichiza populea*. Același lucru îl confirmă S. Schönhar (1959) și Hubbes (1959) în R.F. Germană. Deși la noi boala nu a produs calamități pînă acum, totuși este necesar să se urmărească îndeaproape apariția ei și să se distrugă focarele de infecție, cu atît mai mult cu cît ciuperca produce adevărate epifitii.

Pentru ca boala să fie ușor recunoscută pe puieți, se va descrie simptomatologia acestor două ciuperci.

Pe puieți boala poate fi ușor observată primăvara, în lunile martie și aprilie, cînd apar pe tulpină, de regulă în regiunea de deasupra coletului, pete nedelimitate, de diferite mărimi și forme variate, de culoare verde închis la început, apoi

galben-ruginii. În dreptul petelor scoarța este ușor încrețită și, din cauza distrugerii țesuturilor, regiunea pătată se adîncește. Pe aceste pete se observă foarte bine fructificațiile ciupercii, care apar sub forma unor pustule, de culoare brun negricioase, de 1—2 mm (fig. 1). În interiorul acestor pustule se găsesc fructificațiile imperfecte ale ciupercii, încadrate la specia *Dothichiza populea*. Sporii sînt puși în libertate — în special după ploaie — sub forma unui cîrcel, de culoare gălbuie. Apoi, sînt transportați de curenții de aer, de insecte și de ploaie și pătrund în plante prin răni, infectîndu-le. Infecțiile se produc în tot timpul repausului vegetativ, fiind favorizate de variațiile de temperatură. Experimental s-a dovedit că variațiile de temperatură împiedică calusarea rănilor, deci mențin porțile de intrare a sporilor, în timp ce temperatura constantă grăbește procesul de calusare a rănilor oprind în felul acesta producerea de noi infecții.

Fig. 1. Porțiune dintr-un exemplar de 1 an prezentînd atacul produs de *Dothichiza populea* (original).

Dovadă că infecțiile se produc în natură în timpul repausului vegetativ (cu optimum la temperatura în jur de 10°C) sînt infecțiile artificiale, care au dat rezultate bune în această perioadă. Unii autori, pe baza experiențelor, afirmă că la temperatura de 16°C în jurul locului de infecție ia naștere un țesut de calusare dur, care împiedică pătrunderea mai departe a hifelor și toxinelor ciupercii. Hifele ciupercii pot să ajungă pînă la țesutul lemnos, pe care-l colorează în brun-roșcat, iar în lujerii tineri ajung pînă la măduvă.

În caz de atac slab, se produce uscarea scoarței în dreptul petelor; cînd însă atacul este puternic sau petele inelează tulpina, partea de deasupra tulpinii se usucă.

Către toamnă apar fructificațiile perfecte ale ciupercii, cunoscute sub denumirea de *Cenangium populneum* (Pers.) Rehm. Apoteciile sînt de culoare neagră, iar ascosporii sînt puși în libertate într-un lichid negricios-vîscos.

Dothichiza populea a fost găsită și pe tulpinile și ramurile arborilor cu scoarța netedă, producînd pete și răni cunoscute sub numele de cancere. Aceste răni se pot deosebi de cele produse de *Pseudomonas syringae* f. *populea* prin faptul că sînt ușor adîncite în țesut, nu au contur precis, iar în dreptul acestor pete sau răni apar fructificațiile ciupercii sub formă de pustule (fig. 2).

Boala este periculoasă și în plantațiile pînă la șapte ani, producînd uscarea exemplarelor. La arbori produce uscarea ramurilor.

În afară de *Dothichiza populea*, la uscarea puieților mai contribuie și ciuperca *Cytospora chrysosperma* (Pers.) Fr. Atacul acestei ciuperci se manifestă primăvara, odată cu pornirea vegetației, sub formă de pete neregulate, de culoare verde-închis, care apoi devin gălbui, contrastînd în mod vizibil cu scoarța sănătoasă. În dreptul petelor se observă fructificațiile ciupercii, sub formă de pustule mai mici decît cele de la *Dothichiza*, cenușii-negricioase la vîrf, în interiorul cărora se află cîte o picnidie aparținînd formei conidiene *Cytospora chrysosperma*. Sporii sînt puși în libertate din picnidii sub formă de cîrcei, însă de culoare galben-portocalie. În caz de umiditate mare, sporii ies sub formă de picături. Transportul sporilor se face cu ajutorul vîntului, al insectelor și al picăturilor de ploaie, iar infecția se face prin răni. Cu timpul, scoarța din dreptul petelor se usucă și se desprinde de lemn. Cînd atacul este puternic, exemplarele se usucă. Periteciile ciupercii se formează către toamnă, în jurul locului de formare a picnidiilor. Forma perfectă a ciupercii este cunoscută sub numele de *Valsa sordida* (Ntke), iar ascosporii joacă un rol mai mic în răspîndirea bolii.

Fig. 2. Porțiune de tulpină de la un exemplar de 5 ani prezentînd atacul produs de *Dothichiza populea* (original).

Cytospora chrysosperma produce pagube mari, provocînd uscări în masă în pepiniere și plantații tinere. În arborete boala se localizează pe ramuri de 2—8 ani, care în caz de atac intens se usucă.

Condițiile care favorizează atacul ciupercilor

De bună seamă că prima condiție este prezența sporilor, însă sporii pot să devină inactivi dacă nu întîlnesc condițiile necesare de dezvoltare. Aceste condiții sînt multiple. Se vor menționa cele mai importante și care, practic (o parte din ele), pot fi înlăturate, în scopul menținerii stării de sănătate a plantațiilor noastre.

Factorii naturali care favorizează boala sînt: seceta, înghețurile timpurii sau tîrzii, temperatura și umiditatea. Pe lîngă acești factori, se mai adaugă: